Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Exclusivamente para exportação dos EUA.

Informações gerais **2**
Utilização prevista 2
Resumo e explicação do teste 2
Princípios do procedimento 3
Advertências e precauções 4
Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes 5
Colheita e conservação de espécimes 6
Interpretação do teste **21**
Limitações **22**
Resultados previstos do Tigris DTS System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco **23**
Desempenho do ensaio no Tigris DTS System **24**
Resultados previstos do Panther System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco **43**
Desempenho do ensaio no Panther System **44**
Bibliografia **61**

Tigris™ DTS™ System

Tigris DTS System **8**
Reagentes e materiais fornecidos 8
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente 9
Procedimento de teste do Tigris DTS System 10
Notas sobre o procedimento 12

Panther™ System

Panther System **14**
Reagentes e materiais fornecidos 14
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente 15
Procedimento de teste no Panther System 16
Notas sobre o procedimento 18

Informações gerais

Utilização prevista

O Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima é um teste de amplificação de ácido nucleico *in vitro* para a detecção qualitativa de RNA mensageiro (mRNA) E6/E7 viral a partir dos tipos de alto risco 16, 18 e 45 do vírus do papiloma humano (human papillomavirus, HPV) em amostras provenientes de mulheres com resultados do Aptima HPV Assay positivos. O mRNA do HPV é detectado em espécimes de Papanicolau do colo do útero baseados em citologia líquida, colhidos em frascos ThinPrep™ contendo solução PreservCyt™ pré- ou pós-processamento de Papanicolau, ou em espécimes colhidos com o Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais. Os espécimes cervicais colhidos no Fluido Conservante SurePath podem ser testados com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima. O ensaio é utilizado com o Tigris DTS System e o Panther System.

Resumo e explicação do teste

O cancro do colo do útero é um dos tipos de cancro feminino mais comuns em todo o mundo. O HPV é o agente etiológico responsável por mais de 99% de todos os cancros do colo do útero.[1,2,3] O HPV é um vírus de DNA comum transmitido por via sexual constituído por mais de 100 genótipos.[4]

O genoma viral do HPV é um DNA circular de cadeia dupla com um comprimento aproximado de 7900 pares de bases. O genoma tem oito grelhas de leitura aberta sobrepostas. Há seis genes precoces (E), dois genes tardios (L) e uma longa região de controlo não traduzida. Os genes L1 e L2 codificam as proteínas das cápsides major e minor. Os genes precoces regulam a replicação viral do HPV. Os genes E6 e E7 dos genótipos de HPV alto risco são conhecidos como oncogenes. As proteínas expressas do mRNA policistrónico E6/E7 alteram as funções das proteínas celulares p53 e retinoblastoma, dando origem à falha dos pontos de verificação do ciclo celular e à instabilidade do genoma da célula.[5,6]

Catorze genótipos do HPV são considerados patogénicos ou de alto risco para a progressão da doença do colo do útero.[7] Diversos estudos têm associado os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 à progressão da doença.[2,5,8] Os doentes que apresentam uma infecção persistente com um desses tipos possuem um maior risco de desenvolver displasia grave ou carcinoma do colo do útero.[7,9]

Estudos demonstraram que os diferentes tipos de HPV de alto risco apresentam diferentes níveis de risco para o desenvolvimento de displasia grave ou carcinoma do colo do útero. Em todo o mundo, os tipos 16, 18 e 45 do HPV estão associados a aproximadamente 80% de todos os cancros do colo do útero invasivos.[2,10] Estes três tipos são encontrados em 75% de todos os carcinomas escamosos, sendo que o tipo 16 constitui a maioria (85%) destas infecções. Em adenocarcinomas, os tipos de HPV 16, 18 e 45 são encontrados em 80-94% dos casos, com os tipos 18 e 45 constituindo quase metade de todas estas infecções.[2,10] A presença do HPV de tipo 18 numa fase inicial do cancro do colo do útero foi reportada como estando associada a um diagnóstico fraco.[11] Os tipos 18 e 45 do HPV são sub-reportados em lesões pré-oncológicas, que podem ser causadas pela presença de lesões ocultas no canal cervical inacessível ao exame de colposcopia.[12] Em mulheres infectadas com HPV de tipo 16 e/ou 18, o risco cumulativo de desenvolvimento de cancro do colo do útero é 10 vezes superior comparativamente ao risco de desenvolvimento de cancro devido a outros tipos de alto risco.[13,14,15]

Princípios do procedimento

O Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima envolve três passos principais, os quais ocorrem num único tubo: captação do alvo, amplificação do alvo por amplificação mediada por transcrição (Transcription-Mediated Amplification, TMA);[16] e detecção dos produtos de amplificação pelo ensaio de protecção da hibridação (Hybridization Protection Assay, HPA).[17] O ensaio incorpora um controlo interno (Internal Control, IC) para controlar a captação, amplificação e detecção do ácido nucleico, bem como o erro do operador ou do instrumento.

Os espécimes são colhidos ou transferidos para um tubo que contém um meio de transporte de espécimes (Specimen Transport Media, STM) submete as células ao processo de lise, liberta o mRNA e o protege da degradação durante a conservação. Quando se executa o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima, o mRNA alvo é isolado do espécime através da utilização de oligómeros de captação que estão ligados a micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captação contêm sequências complementares para regiões específicas das moléculas alvo do mRNA do HPV, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas das sequências dos oligómeros de captação ligam-se a regiões específicas das moléculas alvo do mRNA do HPV. O complexo do oligómero de captação/alvo é então captado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reacção para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captação e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas por covalência às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo do mRNA do HPV captadas ligadas a elas, são arrastadas para a parte lateral do tubo de reacção pela utilização de ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores de amplificação.

Terminada a captação do alvo, o mRNA do HPV é amplificado por TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico baseado na transcrição e que utiliza duas enzimas: a transcriptase reversa MMLV e a polimerase do RNA T7. A transcriptase reversa é utilizada para gerar uma cópia do DNA da sequência alvo do mRNA contendo uma sequência promotora para a polimerase do RNA T7. A polimerase do RNA T7 produz várias cópias do produto de amplificação do RNA a partir do modelo da cópia do DNA.

A detecção do produto de amplificação é feita através do HPA utilizando sondas de ácido nucleico de cadeia simples marcadas por quimioluminescência que são complementares do produto de amplificação. As sondas de ácido nucleico marcadas são hibridadas especificamente no produto de amplificação. O Reagente de Selecção diferencia entre sondas hibridadas e não hibridadas através da desactivação da marca nas sondas não hibridadas. Durante o passo de detecção, a luz emitida dos híbridos RNA-DNA rotulados é medida como sinais de fotões denominados Unidades de Luz Relativa (URL) num luminómetro. Os resultados finais do ensaio são interpretados com base no sinal para “cutoff” (S/CO) do analito.

O IC é adicionado a cada reacção através do Reagente de Captação do Alvo. O IC controla os passos da captação, amplificação e detecção do alvo do ensaio. O ensaio cinético Dual (Dual Kinetic Assay, DKA) é o método utilizado para distinguir os sinais do HPV e o sinal do IC.[18] O produto de amplificação do IC e do HPV 16 são detectados por sondas com cinética de emissão de luz rápida (sinal intermitente). O sinal do IC em cada reacção é distinguido do sinal do HPV 16 através da magnitude da emissão de luz. Os produtos de amplificação específicos ao HPV 18 e 45 são detectados utilizando sondas com cinética de emissão de luz relativamente mais lenta (sinal contínuo).

Advertências e precauções

A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

B. Para obter advertências e precauções específicas relacionadas com a instrumentação, consulte o *Manual de Instruções do Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) ou o *Manual de Instruções do Panther System* (Panther System Operator's Manual).

Relacionados com o laboratório

C. Utilize apenas os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.

D. Empregue todas as precauções laboratoriais de rotina. Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho designadas. Utilize luvas sem pó descartáveis, protecção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.

E. **Advertência: Irritantes e Corrosivos:** Evite o contacto do Auto Detect 1 e 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Se estes fluidos entrarem em contacto com a pele ou os olhos, lave bem com água a zona afectada. Se estes fluidos derramarem, dilua o derrame com água antes de o limpar e secar.

F. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento têm de ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Consulte o *Procedimento de Teste do Tigris DTS System* (Tigris DTS System Test Procedure) ou o *Teste de Procedimento do Panther System* (Panther System Test Procedure) para obter mais informação.

Relacionados com os espécimes

G. Mantenha as condições de temperatura adequadas durante o envio e conservação dos espécimes, de modo a garantir a integridade dos espécimes. A estabilidade do espécime não foi avaliada em condições de envio e conservação para além das recomendadas.

H. As datas de validade indicadas nos kits e tubos de colheita/transferência de espécimes referem-se ao local da colheita/transferência e não às instalações de testes. Os espécimes colhidos/transferidos a qualquer momento antes destas datas de validade são válidos para efeitos de testes, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo apropriado, mesmo que estas datas de validade tenham passado.

I. Os espécimes podem ser infecciosos. Empregue Precauções Universais ao executar este ensaio. Os métodos de manuseamento e eliminação adequados devem ser estabelecidos pelo director do laboratório. Apenas o pessoal com a devida formação no manuseamento de materiais infecciosos deve ter permissão para realizar este procedimento.

J. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento dos espécimes. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se elas entrarem em contacto com o espécime.

K. Pode verificar-se descarga de líquido das tampas do tubo após a perfuração em determinadas condições. Consulte o *Procedimento de Teste do Tigris DTS System* (Tigris DTS System Test Procedure) ou o *Teste de Procedimento do Panther System* (Panther System Test Procedure) para obter mais informação.

L. Os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep e de Colheita e Transporte de Espécimes do Colo do Útero (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) devem ser rejeitados se tiver sido deixado um dispositivo de recolha no tubo de amostra.

M. Os espécimes de citologia líquida SurePath devem ser rejeitados se não estiver presente um dispositivo de colheita no frasco.

Relacionados com o ensaio

N. Armazene os reagentes às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afectado pela utilização de reagentes conservados de forma incorrecta.

O. Evite a contaminação microbiana ou com ribonuclease dos reagentes.

P. Não utilize o kit após a data de validade.

Q. Não troque, misture ou combine reagentes do ensaio ou calibradores de kits com números de lote diferentes.

R. Os fluidos do ensaio Aptima, o conservante do fluido do sistema Aptima (apenas para o Tigris DTS System) e os reagentes Auto Detect não fazem parte do lote mestre; pode ser utilizado qualquer lote.

S. É necessário misturar bem os reagentes do ensaio para alcançar resultados exactos.

T. Tem de utilizar pontas com encaixes hidrofóbicos.

Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes

Não utilize reagentes que ultrapassem o prazo de validade indicado nos frascos. Consulte outras instruções de conservação abaixo.

A. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura de 2 °C a 8 °C (refrigerados) após a recepção:

Reagente de amplificação do HPV 16 18/45

Reagente enzimático do HPV 16 18/45

Reagente de sonda do HPV 16 18/45

Reagente do controlo interno do HPV 16 18/45

Calibradores positivos de HPV 16 18/45 e calibradores negativos de HPV 16 18/45

B. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura de 15 °C a 30 °C (temperatura ambiente):

Solução de reconstituição de amplificação do HPV 16 18/45

Solução de reconstituição enzimática do HPV 16 18/45

Solução de reconstituição de sondas do HPV 16 18/45

Reagente de captação do alvo do HPV 16 18/45

Reagente de selecção do HPV 16 18/45

Solução de lavagem

Reagente de óleo

Tampão para o fluido de desactivação

Reagente Auto Detect 1

Reagente Auto Detect 2

Conservante do fluido do sistema Aptima (apenas Tigris DTS System)

C. Após a reconstituição, os seguintes reagentes permanecem estáveis durante 30 dias desde que conservados a uma temperatura de 2 °C a 8 °C:

Reagente de amplificação do HPV 16 18/45

Reagente enzimático do HPV 16 18/45

Reagente de sonda do HPV 16 18/45

D. O reagente de captação do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) permanece estável durante 30 dias desde que conservado a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Não refrigere.

E. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não utilizados após 30 dias ou após a data de validade do lote principal, conforme o que ocorrer primeiro.

F. Os reagentes do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay permanecem estáveis durante um período cumulativo de 48 horas quando conservados integrados no Tigris DTS System.

G. Os reagentes do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima permanecem estáveis durante um período cumulativo de 72 horas quando conservados no Panther System.

H. O Reagente de Sonda e o Reagente de Sonda Reconstituído são fotossensíveis. Conserve os reagentes ao abrigo da luz.

I. Não congele os reagentes.

Colheita e conservação de espécimes

A. Colheita e processamento de espécimes

Espécimes de citologia líquida ThinPrep

1. Efectue a colheita de espécimes do colo do útero em frascos de exame de Papanicolau ThinPrep que contenham Solução PreservCyt com dispositivos de colheita tipo vassoura ou escova/espátula de acordo com as instruções do fabricante.
2. Antes ou depois do processamento com o Sistema ThinPrep 2000 ou o Sistema ThinPrep 3000, transfira 1 ml de espécime de citologia líquida ThinPrep para um tubo de Transferência de Espécimes Aptima de acordo com o folheto informativo do Kit de Transferência de Espécimes Aptima.

Espécimes de citologia líquida SurePath

1. Proceda à colheita de um espécime de citologia líquida SurePath de acordo com as instruções de utilização do exame de Papanicolau SurePath e/ou do PrepStain System.
2. Transfira o espécime de citologia líquida SurePath para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima, de acordo com as instruções no folheto informativo do Kit de Transferência de Espécimes Aptima.

Espécimes do Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais

Proceda à colheita do espécime de acordo com as instruções de utilização do Kit CSCT.

B. Transporte e conservação antes do teste

Espécimes de citologia líquida ThinPrep

1. Transporte os espécimes de citologia líquida ThinPrep a uma temperatura de 2 °C a 30 °C.
2. Os espécimes devem ser transferidos para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima num prazo de 105 dias após a colheita.

3. Antes da transferência, os espécimes de citologia líquida ThinPrep devem ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 30 °C, e não mais de 30 dias a temperaturas acima de 8 °C.
4. Os espécimes de citologia líquida ThinPrep transferidos para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima podem ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 30 °C durante um máximo de 60 dias.
5. Se for necessário um período de conservação mais longo, o espécime citológico de base líquida ThinPrep ou o espécime citológico de base líquida ThinPrep diluído no Tubo de Transferência de Espécimes pode ser conservado a uma temperatura entre -20 °C a -70 °C durante um máximo de 24 meses.

Espécimes de citologia líquida SurePath

1. Transporte os espécimes de citologia líquida SurePath a uma temperatura de 2 °C a 25 °C.
2. Os espécimes devem ser transferidos para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima num prazo de 7 dias após a colheita.
3. Antes da transferência, os espécimes de citologia líquida SurePath devem ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 25 °C.
4. Os espécimes de citologia líquida SurePath transferidos para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima podem ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 25 °C durante um máximo de 7 dias.
5. Os espécimes SurePath transferidos têm de ser tratados com a Solução de Transferência Aptima antes de serem realizados testes com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima. As amostras tratadas podem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C durante até 17 dias antes da realização de testes com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima. Consulte mais detalhes no folheto informativo do Kit de Transferência de Espécimes.

Espécimes do Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais

1. Transporte e conserve os espécimes a uma temperatura de 2 °C a 30 °C durante um máximo de 60 dias.
2. Se for necessário um período de conservação mais longo, os espécimes do kit de transporte podem ser conservados a uma temperatura entre -20 °C a -70 °C até 24 meses.

C. Conservação de espécimes após o teste

1. Os espécimes que tenham sido analisados devem ser conservados na vertical num suporte.
2. Os tubos de espécimes devem ser tapados com uma barreira de plástico ou de folha de alumínio nova e limpa.
3. Se os espécimes analisados tiverem de ser congelados ou transportados, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser transportados para a realização de testes noutras instalações, as temperaturas especificadas deverão ser mantidas. Antes de destapar espécimes que já tenham sido testados e novamente tapados, os tubos de espécimes têm de ser centrifugados durante 5 minutos a 420 de Força Centrífuga Relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) para levar todo o líquido para o fundo do tubo.

Nota: *Os espécimes têm de ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.*

Tigris DTS System

Reagentes e materiais fornecidos

Nota: Para obter informações sobre quaisquer declarações de perigo e de precaução que possam estar associadas a estes reagentes, consulte a Biblioteca de fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet Library) em www.hologic.com/sds.

Kit do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima, 100 testes (3 embalagens), Código de Produto 303234 ou 303184

Os calibradores podem ser adquiridos em separado. Veja abaixo os códigos de produto das embalagens individuais.

Embalagem Refrigerada do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima
(conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	**Reagente de amplificação do HPV 16 18/45** *Ácidos nucleicos não infecciosos desidratados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.*	1 frasco
E	**Reagente enzimático do HPV 16 18/45** *Transcriptase reversa e polimerase do RNA desidratadas em solução tamponada com HEPES com < 10% de reagente de volume.*	1 frasco
P	**Reagente de sonda do HPV 16 18/45** *Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas (< 500 ng/frasco) desidratadas em solução tampão com succinato contendo < 5% de detergente.*	1 frasco
IC	**Reagente do controlo interno do HPV 16 18/45** *Transcrito de RNA não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente.*	1 frasco

Embalagem à Temperatura Ambiente do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima
(conservar a uma temperatura de 15 °C a 30 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	**Solução de reconstituição de amplificação do HPV 16 18/45** *Solução aquosa contendo conservantes.*	1 frasco
ER	**Solução de reconstituição enzimática do HPV 16 18/45** *Solução tampão com HEPES contendo um agente tensioactivo e glicerol.*	1 frasco
PR	**Solução de reconstituição de sondas do HPV 16 18/45** *Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.*	1 frasco
S	**Reagente de selecção do HPV 16 18/45** *Solução tamponada com 600 mM de borato contendo agente tensioactivo.*	1 frasco

Embalagem à Temperatura Ambiente do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima
(conservar a uma temperatura de 15 °C a 30 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
TCR	**Reagente de captação do alvo do HPV 16 18/45** *Ácido nucleico não infeccioso numa solução tamponada contendo fase sólida (< 0,5 mg/ml).*	1 frasco
	Colarinhos de Reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal	1 folha

Embalagem de Calibradores do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima (Código de Produto 303235 ou 303183)
(conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL1	**Calibrador positivo 1 do HPV 16 18/45** *Transcrito in vitro não infeccioso do HPV 18 a 750 cópias por ml numa solução tamponada contendo < 5% de detergente*.	5 frascos
PCAL2	**Calibrador positivo 2 do HPV 16 18/45** *Transcrito in vitro de HPV 16 não infeccioso a 1000 cópias por ml numa solução tamponada contendo < 5% de detergente*.	5 frascos
NCAL	**Calibrador negativo do HPV 16 18/45** *Solução tampão contendo < 5% de detergente.*	5 frascos

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: *Os materiais disponíveis na Aptima têm a indicação do código de produto, a menos que seja especificado em contrário.*

	Código de Produto
Tigris DTS System	105118
Kit de Execução do Tigris DTS System	301191
Unidades Multitubos (Multi-tube Units, MTU)	*104772-02*
Saco de Resíduos de MTU-Pontas	*900907*
Deflectores do Recipiente de Resíduos de MTU	*900931*
Tampas do Recipiente de Resíduos de MTU	*105523*
Kit de Fluidos do Aptima Assay	302382
(Solução de Lavagem Aptima, Tampão Aptima para Fluido de Desactivação e Reagente de Óleo Aptima)	
Kit Aptima Auto Detect	301048
Kit de Conservante do Fluido do Sistema Aptima	302380
Pontas, 1000 µl, condutoras, detecção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de Transferência de Espécimes Aptima	301154C
Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais	302657
Tampas Perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036
Tampas sobresselentes para kits de 100 testes:	
Soluções de reconstituição do Reagente de Amplificação e do Reagente de Sonda	*CL0041*
Solução de reconstituição do Reagente Enzimático	*CL0041*
TCR e Reagente de Selecção	*501604*
Lixívia (mínimo de 5% ou 0,7 M de solução de hipoclorito de sódio)	—

Água para o Tigris DTS System *Consulte o Manual do Operador do Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) para especificações*	—
Luvas descartáveis	—
Kit de Solução de Transferência Aptima (apenas para espécimes SurePath)	303658

Materiais opcionais

	Código de Produto
Intensificador de Lixívia para limpeza	302101

Procedimento de teste do Tigris DTS System

Nota: *Consulte o Manual do Operador do Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) para mais informações sobre o procedimento do Tigris DTS System.*

A. Preparação da área de trabalho

Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies e os pipetadores durante pelo menos 1 minuto e depois enxagúe com água. Não deixe a solução de hipoclorito de sódio secar. Cubra a superfície da bancada onde serão preparados os reagentes com capas limpas e absorventes para bancadas de laboratórios com forro plástico.

B. Preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: *A Reconstituição dos Reagentes deve ser realizada antes de qualquer trabalho no Tigris DTS System.*

1. Para reconstituir os Reagentes de Amplificação, Enzimático e de Sonda, combine os frascos do reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição alcançar a temperatura ambiente antes de serem utilizadas.
   a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respectivo reagente liofilizado.
   b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
   c. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira bem a extremidade com entalhe do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).
   d. Abra a solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
   e. Segurando o frasco de solução na bancada, insira bem a outra extremidade do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
   f. Inverta suavemente os frascos montados. Deixe a solução vazar do frasco para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
   g. Agite suavemente a solução no frasco para a misturar bem. Evite criar espuma quando agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
   h. Aguarde que o reagente liofilizado se dissolva e depois inverta novamente os frascos montados, inclinando-os a um ângulo de 45° para minimizar a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe o líquido vazar todo de novo para o frasco de plástico.

i. Retire o colarinho de reconstituição e o frasco (Figura 1, Passo 6).

j. Volte a colocar a tampa no frasco de plástico. Anote as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).

k. Deite fora o colarinho de reconstituição e o frasco (Figura 1, Passo 8).

Advertência: *Evite formar espuma quando reconstituir os reagentes. A espuma compromete a detecção de nível no Tigris DTS System.*

Nota: *Misture bem os Reagentes de Amplificação, Enzimático, de Sonda e de Selecção invertendo suavemente antes de carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

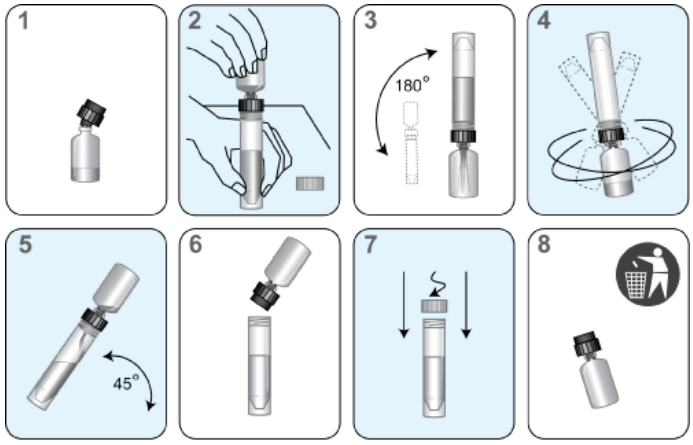

Figura 1. Processo de reconstituição do Tigris DTS System

2. Prepare o Reagente de Captação do Alvo de trabalho (working Target Reagent, wTCR):
   a. Emparelhe os frascos de TCR e de Controlo Interno (Internal Control, IC) adequados.
   b. Verifique os números do lote de reagente na Ficha do Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
   c. Abra o frasco de TCR e deposite a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
   d. Abra o frasco de IC e deite todo o conteúdo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido deverá ficar no frasco de IC.
   e. Tape o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
   f. Anote as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.
   g. Deite fora o frasco e a tampa do IC.
   h. É possível que haja formação de precipitado no wTCR, o que pode resultar em resultados inválidos devido aos erros de verificação de volume. O precipitado pode ser dissolvido aquecendo o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Prepare o reagente de seleçcão
   a. Verifique o número do lote de reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que pertence ao kit.
   b. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C ± 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente

de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.

Nota: *Misture bem todos os reagentes invertendo-os suavemente, antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

C. Preparação de reagentes previamente reconstituídos

1. Os Reagentes de Sonda, Amplificação e Enzimático previamente reconstituídos têm de alcançar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
2. Se o Reagente de Sonda reconstituído contiver precipitado que não se dissolva novamente à temperatura ambiente, aqueça-o a uma temperatura máxima de 60 °C durante 1 ou 2 minutos. Não utilize se houver precipitado ou nebulosidade.
3. Se o wTCR contiver precipitado, aqueça o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
4. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C ± 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.
5. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de ser colocado no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
6. Não ateste frascos de reagente. O Tigris DTS System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Manuseamento de amostras

1. Deixe as amostras (calibradores e espécimes) alcançar a temperatura ambiente antes de serem processadas.
2. **Não coloque as amostras no agitador.**
3. Inspeccione os tubos de amostras antes de os colocar no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume mais inferior ao normalmente observado, centrifugue o tubo durante 5 minutos a 420 RCF para garantir que não há líquido na tampa.

Nota: *O não seguimento do passo 3 pode resultar em descarga de líquido pela tampa do tubo de amostra.*

E. Preparação do sistema

Configure o instrumento e a lista de trabalho de acordo com as instruções no *Manual do Operador do Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) e na secção *Notas sobre o procedimento* abaixo.

Notas sobre o procedimento

A. Calibradores

1. Cada lista de trabalho deve conter 2 réplicas do Calibrador Negativo e cada Calibrador Positivo. De modo a poder trabalhar adequadamente com o software do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima, o calibrador negativo deve estar na primeira posição do tubo do primeiro suporte da lista de trabalho, o calibrador positivo 1 deve estar na segunda posição do tubo do primeiro suporte da lista de trabalho e o calibrador positivo 2 deve estar na terceira posição do tubo do primeiro suporte da lista de trabalho.
2. As tentativas de pipetar mais de três réplicas a partir de um tubo de calibrador podem originar erros de volume insuficiente.

3. Os calibradores devem ser utilizados com o lote principal dos reagentes correspondente. O operador deve verificar, para se certificar se é utilizado o lote correcto de calibradores com o kit de reagentes do lote principal correspondente, conforme indicado na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal. Deve ser referenciado o número do lote adequado quando encomendar calibradores adicionais.

B. Temperatura

A temperatura ambiente define-se como uma temperatura entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó nalgumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendada a utilização de luvas sem pó.

Panther System

Reagentes e materiais fornecidos

Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima, 100 testes (3 embalagens), Código de Produto 303236 ou 303241

Os calibradores podem ser adquiridos à parte. Veja abaixo os códigos de produto das embalagens individuais.

Embalagem refrigerada do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima (conservar a uma temperatura entre 2 °C a 8 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	**Reagente de amplificação do HPV 16 18/45** *Ácidos nucleicos não infecciosos desidratados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.*	1 frasco
E	**Reagente Enzimático do HPV 16 18/45** *Transcriptase reversa e polimerase do RNA desidratadas em solução tamponada com HEPES com < 10% de reagente de volume.*	1 frasco
P	**Reagente de Sonda do HPV 16 18/45** *Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas (< 500 ng/frasco) desidratadas em solução tampão com succinato contendo < 5% de detergente.*	1 frasco
IC	**Reagente do Controlo Interno do HPV 16 18/45** *Transcrito de RNA não-infeccioso em solução tampão com < 5% de detergente.*	1 frasco

Embalagem à temperatura ambiente do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima (conservar a uma temperatura entre 15 °C a 30 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	**Solução de Reconstituição de Amplificação do HPV 16 18/45** *Solução aquosa contendo conservantes.*	1 frasco
ER	**Solução de Reconstituição Enzimática do HPV 16 18/45** *Solução tampão com HEPES contendo um agente tensioactivo e glicerol.*	1 frasco
PR	**Solução de Reconstituição de Sondas do HPV 16 18/45** *Solução tampão com succinato contendo < 5% de detergente.*	1 frasco
S	**Reagente de Selecção do HPV 16 18/45** *Solução tampão com 600 mM de borato contendo agente tensioactivo.*	1 frasco
TCR	**Reagente de Captação do Alvo do HPV 16 18/45** *Ácido nucleico não infeccioso numa solução tampão contendo fase sólida (< 0,5 mg/ml).*	1 frasco
	Colarinhos de Reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal	1 folha

Embalagem de Calibradores do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima (Código de Produto 303235 ou 303183)
(conservar a uma temperatura entre 2 °C a 8 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL1	**Calibrador Positivo 1 do HPV 16 18/45** *Transcrito in vitro não infeccioso do HPV 18 a 750 cópias por ml numa solução tampão contendo < 5% de detergente*.	5 frascos
PCAL2	**Calibrador Positivo 2 do HPV 16 18/45** *Transcrito in vitro não infeccioso do HPV 16 a 1000 cópias por ml numa solução tampão contendo < 5% de detergente*.	5 frascos
NCAL	**Calibrador Negativo do HPV 16 18/45** *Solução tampão contendo < 5% de detergente.*	5 frascos

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: *Os materiais disponíveis na Aptima têm a indicação do código de produto, a menos que seja especificado em contrário.*

	Código de Produto
Panther System	303095
Kit de Execuções Panther	303096
Kit de Fluidos de Ensaio Aptima	*303014*
(Solução de Lavagem Aptima, Tampão Aptima para Fluido de Desactivação e Reagente de Óleo Aptima)	
Kit Aptima Auto Detect	*303013*
Unidades Multitubos (MTU)	*104772-02*
Kit do Saco de Resíduos Panther	*902731*
Tampa do Recipiente de Resíduos Panther	*902714*
Pontas, condutoras de 1000 µl, detecção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de Transferência de Espécimes Aptima	301154C
Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais	302657
Tampas Perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas sobresselentes para kits de 100 testes:	
Soluções de reconstituição do Reagente de Amplificação e do Reagente de Sonda	*CL0041*
Solução de reconstituição do Reagente Enzimático	*CL0041*
TCR e Reagente de Selecção	*501604*
Lixívia (mínimo de 5% ou 0,7 M de solução de hipoclorito de sódio)	—
Luvas descartáveis	—
Kit de Solução de Transferência Aptima (apenas para espécimes SurePath)	303658

Materiais opcionais

	Código de Produto
Intensificador de Lixívia para limpeza	302101

Procedimento de teste no Panther System

Nota: *Consulte o Manual do Operador do Panther System (Panther System Operator's Manual) para mais informações sobre o procedimento do Panther System.*

A. Preparação da área de trabalho

Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes e as amostras. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxagúe com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada onde serão preparados os reagentes e as amostras com capas limpas e absorventes para bancadas de laboratórios com forro plástico.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: *A Reconstituição do Reagente deve ser realizada antes de qualquer trabalho no Panther System.*

1. Para reconstituir os Reagentes de Amplificação, Enzimático e de Sonda, combine os frascos do reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição alcançar a temperatura ambiente antes de serem utilizadas.
    a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respectivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de etiqueta correspondentes antes de aplicar o colarinho de reconstituição.
    b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
    c. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira bem a extremidade com entalhe do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 2, Passo 1).
    d. Abra a solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
    e. Segurando o frasco de solução na bancada, insira bem a outra extremidade do colarinho de reconstituição no frasco (Figura 2, Passo 2).
    f. Inverta suavemente os frascos montados. Deixe a solução vazar do frasco para o frasco de vidro (Figura 2, Passo 3).
    g. Agite suavemente a solução no frasco para misturá-la bem. Evite criar espuma quando agitar o frasco (Figura 2, Passo 4).
    h. Aguarde que o reagente liofilizado se dissolva e depois inverta novamente os frascos montados, inclinando-os a um ângulo de 45º para minimizar a formação de espuma (Figura 2, Passo 5). Deixe o líquido vazar todo de novo para o frasco de plástico.
    i. Retire o colarinho de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 2, Passo 6).
    j. Volte a colocar a tampa no frasco de plástico. Anote as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 2, Passo 7).
    k. Deite fora o colarinho de reconstituição e o frasco (Figura 2, Passo 8).

Advertência: *Evite formar espuma quando reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível no Panther System.*

Nota: *Misture bem os Reagentes de Amplificação, Enzimático, de Sonda e de Selecção invertendo suavemente antes de carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

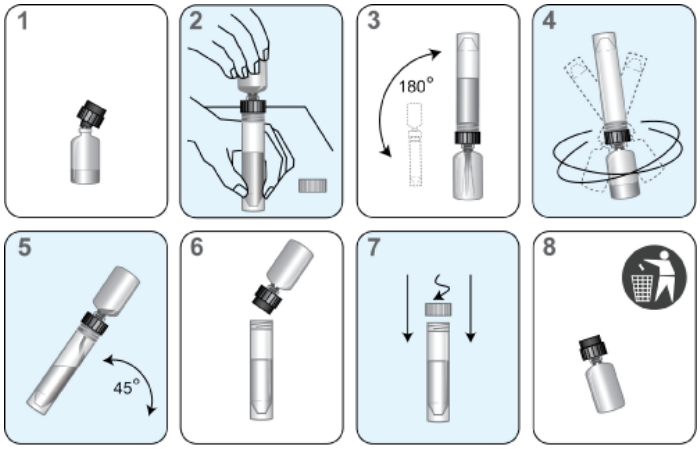

Figura 2. Processo de reconstituição do Panther System

2. Prepare o Reagente de Captação do Alvo de trabalho (wTCR):
   a. Emparelhe os frascos de TCR e de Controlo Interno (IC) adequados.
   b. Verifique os números do lote de reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados do kit.
   c. Abra o frasco de TCR e deposite a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
   d. Abra o frasco de IC e deite todo o conteúdo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido deverá ficar no frasco de IC.
   e. Tape o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
   f. Anote as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.
   g. Deite fora o frasco e a tampa do IC.
   h. É possível que haja formação de precipitado no wTCR, o que pode resultar em resultados inválidos devido aos erros de verificação de volume. O precipitado pode ser dissolvido aquecendo o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Prepare o Reagente de Selecção
   a. Verifique o número do lote de reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que pertence ao kit.
   b. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C ± 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.

Nota: *Misture bem todos os reagentes invertendo-os suavemente, antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

C. Preparação de reagentes previamente reconstituídos
   1. Os Reagentes de Amplificação, Enzimático e de Sonda previamente reconstituídos têm de alcançar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
   2. Se o Reagente de Sonda reconstituído contiver precipitado que não se dissolva novamente à temperatura ambiente, aqueça-o a uma temperatura máxima de 60 °C durante 1 ou 2 minutos. Não utilize se houver precipitado ou nebulosidade.

3. Se o wTCR contiver precipitado, aqueça o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
4. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C ± 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.
5. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de o colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
6. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Manuseamento de amostras

1. Permita que as amostras (calibradores, espécimes e quaisquer amostras de qualidade de controlo externas fornecidas pelo utilizador) alcancem a temperatura ambiente antes de iniciar o processamento.
2. **Não coloque as amostras no agitador.**
3. Inspeccione os tubos de amostra antes de os carregar no suporte. Se um tubo de amostra apresentar bolhas ou um volume mais baixo do que o normalmente observado, centrifugue o tubo durante 5 minutos a 420 RCF para garantir que não existe líquido na tampa.

Nota: *O não cumprimento do passo 3 pode resultar em descarga de líquido pela tampa do tubo de amostra.*

E. Preparação do sistema

Configure o sistema de acordo com as instruções no *Manual do Operador do Panther System* (Panther System Operator's Manual) e na secção *Notas sobre o procedimento* abaixo. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.

Notas sobre o procedimento

A. Calibradores

1. Para trabalhar adequadamente com o software do Ensaio dos genótipos 16 18/45 Aptima no Panther System, são necessárias duas réplicas do Calibrador Negativo e de cada Calibrador Positivo. Pode ser colocado um frasco de cada calibrador em qualquer posição do suporte numa Pista da Zona de Amostras no Panther System. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
   a. Os calibradores Positivo e Negativo estão actualmente a ser processados pelo Panther System.
   b. Os resultados válidos para os calibradores estão registados no Panther System.
2. Uma vez pipetados os tubos de calibrador e quando estiverem a ser processados para um kit de reagente específico, os espécimes podem ser executados com o respectivo kit de reagente de ensaio até 24 horas, a menos que:
   a. os calibradores não sejam válidos;
   b. o respectivo kit de reagente de ensaio seja removido do Panther System;
   c. o respectivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. As tentativas de pipetar mais de duas réplicas a partir de um tubo do calibrador podem originar erros de volume insuficiente.

B. Temperatura

A temperatura ambiente define-se como uma temperatura entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó nalgumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendada a utilização de luvas sem pó.

Procedimentos de controlo de qualidade

A. Critérios de validade da execução

O software determina automaticamente a validade da execução. O software invalida uma execução, se qualquer das seguintes condições ocorrer:

- Mais de uma réplica de Calibrador Negativo inválido.
- Mais de uma réplica de Calibrador Positivo 1 inválido.
- Mais de uma réplica de Calibrador Positivo 2 inválido.
- Mais do que 1 de 6 réplicas de calibradores inválidas combinadas.

Uma execução pode ser invalidada por um operador se forem observadas e documentadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento durante a realização do ensaio.

Uma execução inválida tem de ser repetida. As execuções abortadas devem ser repetidas.

B. Critérios de aceitação do calibrador

A tabela abaixo define os critérios de RLU para as réplicas dos Calibradores Negativo e Positivo.

	Tigris DTS System	Panther System
Calibrador negativo		
18/45 RLU	*≥ 0 e ≤ 60 000 RLU*	*≥ 0 e ≤ 60 000 RLU*
IC/16 RLU	*≥ 75 000 e ≤ 300 000 RLU*	*≥ 75 000 e ≤ 300 000 RLU*
Calibrador positivo 1		
18/45 RLU	*≥ 850 000 e ≤ 2 200 000 RLU*	*≥ 800 000 e ≤ 2 200 000 RLU*
IC/16 RLU	*≤ 475 000 RLU*	*≤ 475 000 RLU*
Calibrador positivo 2		
18/45 RLU	*≤ 115 000 RLU*	*≤ 115 000 RLU*
IC/16 RLU	*≥ 625 000 e ≤ 4 000 000 RLU*	*≥ 625 000 e ≤ 4 000 000 RLU*

C. Cutoff do IC

O cutoff do IC é determinado a partir do sinal do analito do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo.

Cutoff do IC = *0,5 x [RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo]*

D. Cutoff do analito 16

O cutoff do analito para o HPV 16 é determinado a partir do sinal do IC/16 RLU das réplicas válidas do calibrador negativo e das réplicas válidas do calibrador positivo 2.

Cutoff do analito 16 = *2 x [RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo] + 0,1 x [RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador positivo 2]*

E. Cutoff do analito 18/45

O cutoff do analito para o HPV 18/45 é determinado a partir do sinal 18/45 da RLU das réplicas válidas do calibrador negativo e das réplicas válidas do calibrador positivo 1.

Cutoff do analito 18/45 = *1 x [RLU média 18/45 das réplicas válidas do calibrador negativo] + 0,18 x [RLU média 18/45 das réplicas válidas do calibrador positivo 1]*

Interpretação do teste

Os resultados dos testes são automaticamente determinados pelo software do ensaio. Um resultado do teste pode ser negativo tanto para o HPV 16 como para o HPV 18/45, negativo para o HPV 16 e positivo para o HPV 18/45, positivo para o HPV 16 e negativo para o HPV 18/45, positivo tanto para o HPV 16 como para o HPV 18/45, ou inválido conforme determinado pelas relações de RLU do IC e do S/CO, conforme descrito na tabela abaixo. Um resultado de teste também pode ser inválido devido a outros parâmetros (por ex., forma anormal da curva) que estejam fora dos intervalos de valores normalmente esperados. Os resultados de testes inválidos devem ser repetidos.

Os espécimes do Kit CSCT podem ser diluídos para transpor potenciais substâncias inibitórias. Dilua 1 parte do espécime inválido em 8 partes de meio de transporte de espécimes (a solução nos tubos do kit CSCT); p. ex., 560 µl do espécime para um novo tubo do kit CSCT que contém 4,5 ml de meio de transporte de espécimes. Inverta suavemente o espécime diluído para misturá-lo; evite a criação de espuma. Teste o espécime diluído em conformidade com o procedimento de ensaio padrão.

Nota: *Não dilua um espécime diluído inválido. Se um espécime diluído produzir um resultado inválido, deverá ser obtido um novo espécime do doente.*

Resultado do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima	**Critérios**
Negativa - 16 **Negativa - 18/45**	*RLU do IC/HPV 16 ≥ cutoff do IC e* *S/CO do HPV 16 < 1,00 e* *S/CO do HPV 18/45 < 1,00*
Negativa - 16 **Positivo - 18/45**	*S/CO do HPV 16 < 1,00 e* *S/CO do HPV 18/45 ≥ 1,00 e* *RLU do HPV 18/45 ≤ 3 000 000*
Positivo - 16 **Negativa - 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 e* *RLU do IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 e* *S/CO do HPV 18/45 < 1,00*
Positivo - 16 **Positivo - 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 e* *RLU do IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 e* *S/CO do HPV 18/45 ≥ 1,00 e* *RLU do HPV 18/45 ≤ 3 000 000*
Inválida	*S/CO do HPV 16 < 1,00 e* *S/CO do HPV 18/45 < 1,00 e* *RLU do IC/HPV 16 < cutoff do IC* *ou* *RLU do IC/HPV 16 > 4 000 000* *ou* *RLU do HPV 18/45 > 3 000 000*

Limitações

A. Os tipos de espécimes que não estejam identificados na utilização prevista não foram avaliados.

B. O desempenho do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima não foi avaliado para indivíduos vacinados contra o HPV.

C. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.

D. A prevalência de infecção por HPV numa população pode afectar o desempenho. Os valores de prognóstico positivo diminuem quando se examinam populações com baixa prevalência ou indivíduos sem risco de infecção.

E. Os espécimes de citologia líquida ThinPrep com menos de 1 ml após a preparação de lâminas para o exame de Papanicolau ThinPrep são considerados inadequados para o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima.

F. Os resultados dos testes podem ser afectados por uma colheita, conservação ou processamento de espécimes incorrectos.

G. O Controlo Interno monitoriza os passos de captura do alvo, amplificação e detecção do ensaio. Não se destina a controlar a adequação da amostra do colo do útero.

H. Um resultado negativo do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima não exclui a possibilidade de anormalidades citológicas ou CIN2, CIN3 ou cancro subjacente ou no futuro.

I. O Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima proporciona resultados qualitativos. Portanto, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal de ensaio positivo e o nível de expressão do mRNA num espécime.

J. A detecção de mRNA do HPV de alto risco (tipos 16, 18 e 45) está dependente do número de cópias presentes no espécime e pode ser afectada pelos métodos de colheita do espécime, de factores do doente, da fase da infecção e da presença de substâncias interferentes.

K. A infecção por HPV não é um indicador de HSIL citológica nem de CIN subjacente de alto grau, nem implica que CIN2, CIN3 ou cancro se irão desenvolver. A maioria das mulheres infectadas com um ou mais tipos de HPV de alto risco não desenvolvem CIN2, CIN3 ou cancro.

L. Os seguintes aspectos podem interferir com o desempenho do ensaio quando se encontram presentes concentrações superiores às especificadas: lubrificantes vaginais (que contenham Poliquatérnio 15) a 1% p/v, creme anti-fúngico (que contenha tioconazol) a 0,03% p/v, muco a 0,3% p/v, hormonas intravaginais (que contenham progesterona) a 1% p/v, Trichomonas vaginalis a 3×10^4 células/ml.

M. Concentrações altas de HPV 45 podem reduzir a capacidade de detecção da presença de baixos níveis de HPV 16 pelo Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima.

N. Não foram avaliados os efeitos de outras potenciais variáveis como corrimento vaginal, utilização de tampões, etc. nem as variáveis de colheita de amostras.

O. A utilização deste dispositivo deve ser limitada a pessoal com formação na utilização do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima.

P. A contaminação cruzada de amostras pode originar resultados falsos positivos. A taxa de contaminação cruzada no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Tigris DTS System e no Panther System foi de 0,35% e 0,19% respectivamente, conforme determinado em estudos não clínicos.

Q. O Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima deve ser interpretado em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos disponíveis ao médico.

Resultados previstos do Tigris DTS System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco

A prevalência de infecção por HPV de alto risco varia amplamente e é influenciada por diversos factores, para os quais a idade é o factor com mais preponderância.[19, 20] Diversos estudos investigaram a prevalência do HPV conforme determinado pela detecção de DNA do HPV, contudo, poucos estudos reportaram a prevalência baseada na detecção do mRNA do HPV oncogénico. Foram inscritas num estudo clínico prospectivo conhecido por ensaio CLEAR mulheres provenientes de diversas clínicas (n=18) representando uma ampla distribuição geográfica e uma população diversa (10 estados dos Estados Unidos da América) para avaliar o Aptima HPV Assay, o qual detecta 14 tipos de HPV de alto risco.[21] Foram avaliadas amostras de mulheres no ensaio CLEAR com resultados positivos no Aptima HPV Assay com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima num estudo clínico em separado. A prevalência do HPV 16, 18 e 45, bem como dos restantes 11 tipos de HPV de alto risco observada no estudo clínico, com base nos resultados do teste com o Aptima HPV assay e com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi categorizada em geral, de acordo com o grupo etário e com o local de teste. Os resultados são apresentados na Tabela 1 para as populações de células escamosas atípicas de significado indeterminado (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabela 1: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco em populações de acordo com o grupo etário, local de teste e todas em conjunto

	Taxa de positividade % (x/n)							
	População ASC-US (≥ 21 anos)				**População NILM (≥ 30 anos)**			
	HPV 16 Pos	**HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e 18/45 Pos**	**Outros 11 de HR* Pos**	**HPV 16 Pos**	**HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e 18/45 Pos**	**Outros 11 de HR* Pos**
Tudo	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
Grupo etário (anos)								
21 a 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/A	N/A	N/A	N/A
30 a 39	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4188)	0,6 (27/4188)	0 (0/4188)	5,3 (221/4188)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6658)	0,3 (20/6658)	0 (0/6658)	3,0 (200/6658)
Local de teste								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3666)	0,5 (18/3666)	0 (0/3666)	3,8 (141/3666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3671)	0,5 (17/3671)	0 (0/3671)	3,7 (136/3671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3509)	0,3 (12/3509)	0 (0/3509)	4,1 (144/3509)

N/A = Não aplicável, HR = alto risco, Pos = positivo
* Tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68

Desempenho do ensaio no Tigris DTS System

Desenho do estudo clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

O Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliado utilizando encaminhamentos de espécimes de Papanicolau colhidos em mulheres que expressaram o seu consentimento durante o estudo clínico americano multicêntrico e prospectivo conhecido por CLEAR. O ensaio CLEAR foi executado para determinar o desempenho clínico do Aptima HPV Assay na detecção de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou doença cervical mais grave (≥CIN2). As mulheres foram inscritas tanto no Estudo ASC-US como no Estudo NILM com base nos seus resultados de encaminhamento baseados em citologia líquida ThinPrep provenientes de rastreios de rotina ao cancro do colo do útero. A população do Estudo ASC-US incluiu mulheres com 21 anos e idade superior com resultados citológicos de ASC-US e a população do Estudo NILM incluiu mulheres com 30 anos e idade superior com resultados citológicos de NILM.

Foram analisadas mulheres provenientes de 18 clínicas, sobretudo clínicas de obstetrícia/ginecologia, que abrangeram uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada. Durante o ensaio CLEAR, os espécimes de encaminhamento residuais de Papanicolau foram testados com o Aptima HPV Assay e com um teste do DNA do HPV disponível no mercado. Para o ensaio clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, foram testadas amostras dos espécimes residuais de encaminhamento de Papanicolau com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima.

Todas as mulheres no Estudo ASC-US foram encaminhadas para colposcopia, independentemente dos seus resultados do Aptima HPV Assay e do teste do DNA do HPV disponível no mercado. Foi obtida uma curetagem endocervical (ECC), biopsia e biopsias cervicais por punção (1 biopsia de cada um dos 4 quadrantes). Caso fosse visível uma lesão, era obtida uma biopsia de punção (método direccionado; 1 biopsia por lesão) e quadrantes sem uma lesão visível foram submetidos a biopsia na junção escamo-colunar (método aleatório).

No Estudo NILM, as mulheres positivas com o Aptima HPV Assay e/ou o teste do DNA do HPV disponível no mercado, bem como as mulheres seleccionadas aleatoriamente que tinham sido negativas com os dois ensaios, foram encaminhadas para colposcopia para a avaliação da linha de referência. Foi obtida uma biopsia ECC de cada uma das mulheres que realizaram colposcopia. As biopsias de punção foram obtidas apenas de lesões visíveis (método directo; 1 biopsia por lesão). O acompanhamento de mulheres no Estudo NILM que não apresentavam ≥CIN2 na linha de referência prossegue há 3 anos com consultas de citologia anuais. As mulheres com ASC-US ou resultados citológicos mais graves durante o período de acompanhamento são encaminhadas para colposcopia utilizando o mesmo procedimento de biopsia realizado para a avaliação da linha de referência.

O estado da doença foi determinado a partir de um consenso do painel de revisão de histologia, que foi baseado na concordância de, pelo menos, 2 patologistas especialistas. O estado de HPV e de citologia das mulheres não foi apresentado aos patologistas especialistas, bem como os diagnósticos de histologia um do outro. Os resultados do Aptima HPV Assay e do teste de DNA de HPV disponível no mercado não foram apresentados aos investigadores, médicos e mulheres até depois da conclusão da consulta de colposcopia, a fim de evitar desvio.

Para validar a utilização prevista do genótipo do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima como um teste de reflexo de um resultado positivo do Aptima HPV Assay, foram elegíveis para teste espécimes residuais de encaminhamento de Papanicolau de todas as mulheres susceptíveis de serem avaliadas no estudo ASC-US e no estudo NILM com um resultado positivo do Aptima HPV Assay com Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima. Foi avaliado o desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a detecção de ≥CIN2 e neoplasia intraepitelial de grau 3 ou doença do colo do útero mais grave (≥CIN3).

População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes de citologia líquida ThinPrep

Na totalidade, verificaram-se 400 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 21 anos ou idade superior com resultados de citologia ASC-US e resultados do Aptima HPV Assay positivos, cujas amostras de encaminhamento de Papanicolau foram elegíveis para teste com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima. Destas, 46 mulheres não possuíam amostras de encaminhamento de Papanicolau disponíveis para teste e 6 apresentavam diagnósticos de doença indeterminada; foram todas excluídas da análise. As restantes 348 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com estados de doença conclusivos apresentaram resultados válidos do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com base no teste de reflexo a partir de um resultado do Aptima HPV Assay positivo. Sessenta e sete (67) mulheres tinham ≥CIN2 e 29 tinham ≥CIN3.

Das 348 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com resultados do Aptima HPV Assay positivos, 117 mulheres apresentaram resultados positivos com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima indicando a presença do HPV 16 e/ou do HPV 18/45; 231 apresentaram resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco conforme detectado pelo Aptima HPV Assay (ou seja, HPV do tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). 545 outras mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 21 anos ou idade superior com resultados de citologia ASC-US apresentaram resultados negativos do Aptima HPV Assay durante o ensaio CLEAR. Um resultado de Aptima HPV Assay negativo indica que nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco se encontram presentes e foram designados como negativos para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade desta análise. A prevalência de ≥CIN2 e ≥CIN3 em mulheres susceptíveis de serem avaliadas com resultados de citologia de ASC-US foi de 8,8% e 3,7%, respectivamente. Os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima pelo resultado do Aptima HPV Assay e o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: População ASC-US ≥ 21 anos: Resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay pelo consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT*	Interpretação	Consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positiva	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	2	125	73	23	10	0	233
Total			6	176	105	38	28	1	354
Negativa	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	13	458	75	8	4	0	558
		Total	19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, CIN1 = neoplasia intraepitelial cervical de grau 1, HR = alto risco, Neg = Negativo, Pos = Positivo

*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste final ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).

**19 mulheres realizaram a consulta de colposcopia, no entanto não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: < 5 de espécimes de biopsia obtidos, todos com resultados de histologia normais/CIN1 (n=15), não foram colhidas biopsias (n=3) e lâminas da biopsia perdidas (n=1).

***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

****Uma mulher apresentava adenocarcinoma in situ (AIS).

O risco absoluto de doença (≥CIN2 e ≥CIN3) de acordo com o resultado do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e o resultado do Aptima HPV Assay são indicados na Tabela 3. O risco de ≥CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 29,1% comparativamente a 14,3% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e 2,2% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Os riscos absolutos são indicados por grupo etário na Tabela 4.

Tabela 3: População ASC-US ≥ 21 anos: Riscos absolutos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
		Prevalência	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Tabela 4: População ASC-US ≥ 21 anos: Riscos absolutos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay por grupo etário

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
21 a 29 anos	**Positiva**	**HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativa	**HPV 16/18/45 Neg***	**HPV de HR Neg**	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
			Prevalência	13,1% (50/383)	5,2% (20/383)
30 a 39 anos	**Positiva**	**HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativa	**HPV 16/18/45 Neg***	**HPV de HR Neg**	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
			Prevalência	7,5% (19/253)	3,2% (8/253)
≥ 40 anos	**Positiva**	**HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativa	**HPV 16/18/45 Neg***	**HPV de HR Neg**	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
			Prevalência	3,9% (10/257)	1,9% (5/257)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Os resultados para o risco relativo de doença positivos vs. negativos do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima são apresentados na Tabela 5. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 13,2 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 22,1 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 2,0 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 3,8 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes.

Tabela 5: População ASC-US ≥ 21 anos: Riscos relativos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay

Interpretação dos resultados do Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. outro HPV de HR positivo	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalência	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

As relações de probabilidade (≥CIN2 e ≥CIN3) segundo o resultado do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima são apresentados na Tabela 6. Os tipos de HPV 16,18 e/ou 45 tinham 4,2 vezes mais probabilidade de estar presentes numa mulher com ≥CIN2 e 5,1 vezes mais probabilidade de estar presente numa mulher com ≥CIN3.

Tabela 6: População ASC-US ≥ 21 anos: Relações de probabilidade para ≥CIN2 e ≥CIN3 pelos resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay

Interpretação dos resultados do Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Outro HPV de HR Positivo	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HPV de HR Negativo	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

População NILM ≥ 30 anos: Desempenho clínico do estudo do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima com espécimes de citologia líquida ThinPrep

Na totalidade, verificaram-se 540 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 30 anos ou idade superior com resultados de citologia de NILM e resultados positivos do Aptima HPV Assay, cujas amostras de encaminhamento de Papanicolau foram elegíveis para teste com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima. Destas, 25 mulheres não possuíam amostras de encaminhamento de Papanicolau disponíveis para teste; foram todas excluídas da análise. As restantes 515 mulheres susceptíveis de serem avaliadas apresentaram resultados válidos do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima. Destas, 317 realizaram colposcopia. Quinze (15) mulheres tinham ≥CIN2 e dez (10) tinham ≥CIN3; 283 mulheres tinham histologia normal/CIN1; 19 mulheres tinham um estado de doença indeterminado.

Das 298 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com estado de doença conclusivo e resultados positivos do Aptima HPV Assay, 61 apresentaram resultados positivos no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, indicando a presença de HPV 16 e/ou HPV 18/45; 237 apresentaram resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco. 505 mulheres adicionais susceptíveis de serem avaliadas com 30 anos ou idade superior com resultados de citologia de NILM e estado de doença conclusivo apresentaram resultados negativos do Aptima HPV Assay durante o ensaio CLEAR. Um resultado negativo de Aptima HPV Assay indica que nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco se encontram presentes e foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade desta análise. Os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima pelo resultado do Aptima HPV Assay e o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: População NILM ≥ 30 anos: Resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay pelo consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT*	Interpretação	Consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positiva	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	16	218	11	4	4	0	253
		Total	19	271	12	5	7	3	317
Negativa	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	25	483	17	4	1	0	530
		Total	44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).
**44 mulheres realizaram a consulta de colposcopia, no entanto não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: não pôde ser alcançado consenso devido aos espécimes inadequados (n=28), não foram colhidas biopsias devido a factores subjacentes (n=13), não foram colhidas nem analisadas biopsias devido a erro (n=3).
***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.
****Três mulheres apresentavam adenocarcinoma in situ (AIS).

Das 515 mulheres com resultados positivos do Aptima HPV Assay e resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, 217 mulheres apresentavam um estado de doença não verificado (incluindo indeterminado) (Tabela 8). Das 10 331 mulheres com resultados negativos do Aptima HPV Assay do ensaio CLEAR original, 9826 apresentavam um estado de doença não verificado. Devido a apenas terem sido encaminhadas para colposcopia mulheres seleccionadas aleatoriamente com resultados negativos para o Aptima HPV Assay e para o teste do DNA do HPV disponível no mercado, a proporção de mulheres com estado de doença não verificado neste grupo foi elevada (96,6%). Para ajustar este desvio de verificação, foi utilizado um método de imputação múltipla para efectuar a estimativa de mulheres com doença que teriam sido identificadas caso todas as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia. São apresentadas tanto as estimativas de desempenho ajustadas do desvio de verificação como as estimativas de desempenho não ajustadas com base nas 803 mulheres com estado de doença verificado.

Tabela 8: População NILM ≥ 30 anos: Classificação de mulheres com NILM susceptíveis de serem avaliadas através do Aptima HPV Assay, Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, resultados do teste do DNA do HPV, estado da doença (≥CIN2 e ≥CIN3) e estado de verificação da doença

Resultado do Aptima HPV Assay*	Resultado do ensaio AHPV-GT*	Teste do DNA do HPV	Total de mulheres	Estado de doença verificada: ≥CIN2		Estado de doença verificada: ≥CIN3		Estado de doença não verificada
				Mulheres doentes (≥CIN2)	Mulheres não doentes (≥CIN2)	Mulheres doentes (≥CIN3)	Mulheres não doentes (≥CIN3)	Mulheres com estado de doença desconhecido (% desconhecida)
Positiva	Positiva	Positiva	83	6	48	5	49	29 (34,9%)
	Positiva	Negativa	9	1	5	1	5	3 (33,3%)
	Positiva	Sem resultado**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativa	Positiva	271	7	171	4	174	93 (34,3%)
	Negativa	Negativa	137	1	52	0	53	84 (61,3%)
	Negativa	Sem resultado**	13	0	6	0	6	7 (53,8%)
		Total	515	15	283	10	288	217 (42,1%)
Negativa	N/A***	Positiva	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
	N/A***	Negativa	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6%)
	N/A***	Sem resultado**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
		Total	10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6%)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, N/A = não aplicável
*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).
**620 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não tinham resultados do teste do DNA do HPV sobretudo devido ao volume insuficiente do espécime de citologia.
***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Os riscos absolutos de doença ajustados (≥CIN2 e ≥CIN3) de acordo com o resultado do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e o resultado do Aptima HPV Assay são apresentados na Tabela 9a. O risco de ≥CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 12,6% comparativamente a 3,4% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e 0,6% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Os riscos absolutos de doença não ajustados são apresentados em geral na Tabela 9b e por grupo etário na Tabela 10.

Tabela 9a: População NILM ≥ 30 anos: Riscos absolutos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A	N/A
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
		Prevalência	0,9%	0,5%

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Tabela 9b: População NILM ≥ 30 anos: Riscos absolutos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
		Prevalência	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Tabela 10: População NILM ≥ 30 anos: Riscos absolutos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay por grupo etário (estimativas não ajustadas)

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
30 a 39 anos	**Positiva**	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
			Prevalência	2,4% (9/375)	1,6% (6/375)
≥ 40 anos	**Positiva**	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
			Prevalência	2,6% (11/428)	1,2% (5/428)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável

*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Os riscos relativos de doença para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com resultados positivos vs. negativos são apresentados na Tabela 11 (desvio de verificação ajustado) e Tabela 12 (não ajustado). Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 20,9 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 29,4 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 3,7 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 5,3 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes.

Tabela 11: População NILM ≥ 30 anos: Riscos relativos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Interpretação do teste do Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. outro HPV de HR pos	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Outro HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalência	0,9%	0,5%

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Tabela 12: População NILM ≥ 30 anos: Riscos relativos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Interpretação do teste do Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. outro HPV de HR pos	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Outro HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalência	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

As relações de probabilidade (≥CIN2 e ≥CIN3) segundo o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima são apresentadas na Tabela 13 (desvio de verificação ajustado) e na Tabela 14 (não ajustado). Os tipos de HPV 16, 18 e/ou 45 tinham 17,1 vezes mais probabilidade de estar presentes numa mulher com ≥CIN2 e 21,9 vezes mais probabilidade de estar presente numa mulher com ≥CIN3.

Tabela 13: População NILM ≥ 30 anos: Relações de probabilidade para ≥CIN2 e ≥CIN3 segundo os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Outros HPV de HR Pos	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HPV de HR Negativo	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = positivo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Tabela 14: População NILM ≥ 30 anos: Relações de probabilidade e probabilidades de doenças para ≥CIN2 e ≥CIN3 por resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Outros HPV de HR Pos	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HPV de HR Negativo	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = positivo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a finalidade da análise.

Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes de citologia líquida SurePath

Foram colhidos espécimes de citologia líquida SurePath de mulheres canadianas encaminhadas para seguimento devido a um ou mais exames Papanicolau anómalos, infecção por HPV ou outra razão. Uma alíquota (0,5 ml) de cada espécime foi transferida para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima e depois tratada com a Solução de Transferência Aptima. Uma única réplica de cada espécime foi testada com o Aptima HPV Assay (n=494). As amostras positivas foram então testadas com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima. Uma alíquota individual (1 ml) de cada espécime foi retirada para ser avaliada com um teste de PCR para o HPV disponível no mercado (n=557). O risco absoluto de doença (≥CIN3) conforme os resultados do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay é apresentado na Tabela 15. São apresentados resultados semelhantes para o teste de PCR para o HPV disponível no mercado, que diferencia o HPV 16 e HPV 18, mas não o HPV 45, distintamente em relação aos outros genótipos de alto risco. O risco relativo de doença para resultados positivos versus negativos de genótipos é apresentado na Tabela 16 para o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e o teste de PCR para o HPV.

Tabela 15: Risco absoluto de ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e um teste de PCR para o HPV disponível no mercado

Resultado para HPV de HR	Resultado para o genótipo	Interpretação	Risco absoluto de ≥CIN3, Aptima (CI de 95%)	Risco absoluto de ≥CIN3, PCR para o HPV (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45* Pos	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 Pos e HPV 18/45* Neg	Apenas HPV 16 Pos	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Pos	Apenas HPV 18/45* Pos	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e HPV 18/45* Pos	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	Outros HPV de HR Pos	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Negativa**	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	HPV de HR Neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
		Prevalência (%)	4,9%	5,0%

HR = alto risco; Pos = Positivo; Neg = Negativo
*O teste de PCR para o HPV só diferencia o HPV 16 e HPV 18 dos outros 12 genótipos de alto risco, incluindo HPV 45.
**Mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, para fins de análise.

Tabela 16: Risco relativo de ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e um teste de PCR para o HPV disponível no mercado

Resultados do Aptima Assay		Resultados do teste de PCR para o HPV	
Interpretação do teste	**Risco relativo para ≥CIN3 (CI de 95%)**	**Interpretação do teste**	**Risco relativo para ≥CIN3 (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16 e/ou 18 Positivo vs. HPV de HR Negativo	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. outro HPV de HR positivo	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16 e/ou 18 Positivo vs. outro HPV de HR Positivo	3,9 (1,6-9,5)
Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	7,5 (2,0-28,6)	Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	3,2 (0,8-12,8)
HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	10,0 (3,0-32,7)	HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	7,4 (2,3-24,3)
Prevalência	4,9%	Prevalência	5,0%

Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com colheita e transporte de espécimes cervicais

A colheita dos espécimes CSCT foi realizada em mulheres em rastreios de rotina ou em consultas de acompanhamento e foram testados com o Aptima HPV assay. Espécimes residuais de CSCT (n=378) com um resultado positivo no Aptima HPV Assay foram testados com o ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima no Tigris DTS System. O genótipo do HPV de cada espécime foi determinado utilizando um teste de genotipagem do DNA. Os espécimes com resultados discordantes entre o teste de genotipagem (DNA e ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima) foram testados com um teste de sequenciamento PCR de transcriptase reversa validado para resolução dos respectivos estados HPV 16, HPV 18 e HPV 45. Foi determinada a concordância clínica (positiva e negativa) do ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco. Os resultados são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Concordância Clínica do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Tigris DTS System para a detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco em espécimes CSCT

		Método de referência				
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg**	**Total**
Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima	**HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg**	125	0	1	0	126
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	43	0	1	44
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	0	0	8	1	9
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	197	199
	Total	126	44	9	199	378

Pos = Positivo, Neg = Negativo
Concordância positiva: 98,3% (176/179) (95% CI: 95,2, 99,4)
Concordância negativa: 99,0% (197/199) (95% CI: 96,4, 99,7)

Sensibilidade analítica

O limite de detecção (Limit of Detection, LOD) no cutoff clínico é uma concentração que é positiva (acima do cutoff clínico) 95% das vezes. O LOD do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi determinado testando espécimes de citologia líquida clínicos negativos individuais ThinPrep aditivados com transcritos de HPV *in vitro* em diversas concentrações. Trinta réplicas de cada nível de cópias foram testadas com cada um de três lotes de reagente para um total de 90 réplicas. O teste foi efectuado durante 6 dias, com três execuções efectuadas por dia e 5 réplicas de um determinado genótipo testado em cada execução. O limite de detecção de 95% (Tabela 18) foi calculado a partir da análise de regressão Probit dos resultados de positividade para cada painel de diluição.

Tabela 18: Limite de Detecção no "cutoff" clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima

Alvo	Limite de Detecção* (CI de 95%)
HPV 16	57,3 (46,5 - 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 - 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 - 82,3)
SiHa	1,2 (0,9, 1,7)
HeLa	0,4 (0,3, 0,5)
MS751	2,6 (1,9, 4,2)

*cópias por reacção para transcritos *in vitro* e células por reacção para linhas celulares

Precisão do Ensaio

A precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliada em dois estudos utilizando o mesmo painel de 22 membros. O Estudo 1 foi realizado em 3 locais de teste externos a fim de determinar a reprodutibilidade do ensaio. O Estudo 2 foi realizado internamente com o objectivo de determinar a precisão em laboratório. O painel incluiu catorze membros do HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações iguais ou superiores ao limite de detecção do ensaio (positividade prevista: ≥ 95%), 5 membros do HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações abaixo do limite de detecção do ensaio (positividade prevista: > 0% a < 25%) e 3 membros do HPV negativos. Os membros positivos do painel do HPV 16 e/ou 18/45 foram preparados aditivando células cultivadas infectadas com HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados ou diluindo espécimes clínicos do HPV 16, 18, e/ou 45 em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados. Os membros negativos do painel do HPV foram preparados com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados.

No Estudo 1, 2 operadores em cada um dos 3 locais de teste (1 instrumento por local) executaram 2 listas de trabalho do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima por dia durante 3 dias. O teste foi executado utilizando 1 lote de reagente. Cada lista de trabalho continha 3 réplicas de cada um dos membros do painel de reprodutibilidade. Foram testados cento e oito (108) tubos de amostra individuais para cada membro do painel (3 locais x 1 instrumento x 2 operadores x 1 lote x 2 listas de trabalho por dia x 3 dias x 3 réplicas). No Estudo 2, o teste foi efectuado internamente durante 20 dias com um total de 162 reacções testadas para cada membro do painel (1 local x 3 instrumentos x 3 operadores x 3 lotes x 2 listas de trabalho x 3 réplicas).

Os membros do painel encontram-se descritos na Tabela 19a e na Tabela 19b, juntamente com um resumo da concordância com resultados previstos para o HPV 16 e HPV 18/45 respectivamente.

Tabela 19a: Precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Estudo 1 e 2: Descrição do painel e concordância percentual com os resultados previstos do HPV 16

Descrição do painel (células/reacção)	Resultados previstos do HPV 16	Concordância percentual (CI de 95%)	
		Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
Células SiHa (3,0 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células HeLa (0,6 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (11,0 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 1	Positiva	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (1,6 células) e células HeLa (3,3 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (1,6 células) e células MS751 (42,5 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (15,7 células) e células HeLa (0,3 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (15,7 células) e células MS751 (4,3 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (1,6 células)	Positiva	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células HeLa (0,3 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células MS751 (4,3 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 2	Positiva	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
Amostra clínica do HPV 18/45 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,1 células)	Negativa	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
Células HeLa (0,02 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,04 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 3	Negativa	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Amostra clínica do HPV 18/45 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Amostra clínica negativa 1 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 2 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 3 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Intervalo de Confiança da Pontuação

Nota: *A concordância percentual pode ter sido afectada por variações na aditivação, diluição e/ou aliquotagem.*

Tabela 19b: Precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Estudo 1 e 2: Descrição do painel e concordância percentual com os resultados previstos do HPV 18/45

Descrição do painel (células/reacção)	Concordância percentual (CI de 95%)		
	Resultado previsto do HPV 18/45	Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
Células SiHa (3,0 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células HeLa (0,6 células)	Positiva	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Células MS751 (11,0 células)	Positiva	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Amostra clínica do HPV 16 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 1	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (1,6 células) e células HeLa (3,3 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (1,6 células) e células MS751 (42,5 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (15,7 células) e células HeLa (0,3 células)	Positiva	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
Células SiHa (15,7 células) e células MS751 (4,3 células)	Positiva	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Células SiHa (1,6 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células HeLa (0,3 células)	Positiva	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
Células MS751 (4,3 células)	Positiva	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
Amostra clínica do HPV 16 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
Amostra clínica do HPV 18/45 2	Positiva	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
Células SiHa (0,1 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células HeLa (0,02 células)	Negativa	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
Células MS751 (0,04 células)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Amostra clínica do HPV 16 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Amostra clínica do HPV 18/45 3	Negativa	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
Amostra clínica negativa 1 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Amostra clínica negativa 2 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 3 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

CI = Intervalo de Confiança da Pontuação

Nota: *A concordância percentual pode ter sido afectada por variações na aditivação, diluição e/ou aliquotagem.*

Reactividade cruzada

A especificidade analítica do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliada com grupos de espécimes de citologia ThinPrep diluídos 1:2,9 em STM (comparável ao espécime transferido para um tubo de transferência Aptima) e aditivado com bactérias, leveduras ou fungos cultivados; vírus cultivados; ou tanscritos de HPV *in vitro* não visados. Os organismos e concentrações de teste para os quais não foi observada reactividade cruzada são identificados na Tabela 20. Os critérios do estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na especificidade do ensaio basearam-se na positividade.

Tabela 20: Painel de especificidade analítica: Organismos e concentração sem reactividade cruzadas

Organismo	Concentração de teste sem reactividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reactividade cruzada
Bactérias			
Acinetobacter lwoffii	$1x10^6$ CFU/ml	*Lactobacillus acidophilus*	$1x10^6$ CFU/ml
Actinomyces israelii	$1x10^6$ CFU/ml	*Lactobacillus crispatus*	$1x10^6$ CFU/ml
Alcaligenes faecalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Listeria monocytogenes*	$1x10^6$ CFU/ml
Atopobium vaginae	$1x10^6$ CFU/ml	*Mobiluncus curtisii*	$1x10^6$ CFU/ml
Bacteroides fragilis	$1x10^6$ CFU/ml	*Mycoplasma genitalium**	$2,5x10^6$ cópias/ml
Bifidobacterium adolescentis	$1x10^6$ CFU/ml	*Mycoplasma hominis*	$1x10^6$ CFU/ml
Campylobacter jejuni	$1x10^6$ CFU/ml	*Neisseria gonorrhoeae*	$1x10^6$ CFU/ml
Chlamydia trachomatis	$1x10^5$ IFU/ml	*Peptostreptococcus magnus*	$1x10^6$ CFU/ml
Clostridium difficile	$1x10^6$ CFU/ml	*Prevotaella bivia*	$1x10^6$ CFU/ml
Corynebacterium genitalium	$1x10^6$ CFU/ml	*Propionibacterium acnes*	$1x10^6$ CFU/ml
Cryptococcus neoformans	$1x10^6$ CFU/ml	*Proteus vulgaris*	$1x10^6$ CFU/ml
Enterobacter cloacae	$1x10^6$ CFU/ml	*Pseudomonas aeruginosa*	$1x10^6$ CFU/ml
Enterococcus faecalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Staphylococcus aureus*	$1x10^6$ CFU/ml
Escherichia coli	$1x10^6$ CFU/ml	*Staphylococcus epidermidis*	$1x10^6$ CFU/ml
Fusobacterium nucleatum	$1x10^6$ CFU/ml	*Streptococcus agalactiae*	$1x10^6$ CFU/ml
Gardnerella vaginalis	$1x10^6$ CFU/ml	*Streptococcus pyogenes*	$1x10^6$ CFU/ml
Haemophilus ducreyi	$1x10^6$ CFU/ml	*Ureaplasma urealyticum*	$1x10^6$ CFU/ml
Klebsiella pneumoniae	$1x10^6$ CFU/ml		
Genótipos de HPV de alto risco não visados*			
HPV 31	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 56	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 33	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 58	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 35	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 59	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 39	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 66	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 51	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 68	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 52	$2,5x10^6$ cópias/ml		
Leveduras/protozoários			
Candida albicans	$1x10^6$ CFU/ml	*Trichomonas vaginalis***	$1x10^5$ células/ml

Tabela 20: Painel de especificidade analítica: Organismos e concentração sem reactividade cruzadas *(continuação)*

Organismo	Concentração de teste sem reactividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reactividade cruzada
Vírus			
Adenovírus	$5,25x10^7$ PFU/ml	HIV-1	$2,5x10^6$ cópias/ml
Citomegalovírus	$1,58x10^6$ $TCID_{50}$/ml	Vírus Herpes simplex 1	$3,39x10^6$ $TCID_{50}$/ml
Vírus Epstein-Barr	$1,59x10^5$ TD_{50}/ml	Vírus Herpes simplex 2	$2,29x10^6$ $TCID_{50}$/ml
Outros genótipos de HPV não visados*			
HPV 6	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 53	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 11	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 67	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 26	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 69	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 30	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 70	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 34	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 73	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 42	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 82	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 43	$2,5x10^6$ cópias/ml	HPV 85	$2,5x10^6$ cópias/ml
HPV 44	$2,5x10^6$ cópias/ml		

CFU = unidades formadoras de colónias, PFU = unidades formadoras de placas, TD_{50} = dose de transformação 50, $TCID_{50}$ = dose infecciosa de culturas de tecidos 50
*Transcrito *in vitro* testado.
**Embora não tenha sido observada reactividade cruzada para Trichomonas vaginalis, foi observada interferência (ver abaixo).

A sensibilidade analítica do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima na presença de microrganismos foi avaliada com o mesmo painel descrito na Tabela 20, que foi também aditivada com uma baixa concentração de células SiHa infectadas com HPV (1,6 célula por reacção) e células HeLa infectadas por HPV (0,3 células/reacção). Os critérios do estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na sensibilidade do ensaio basearam-se na positividade. A presença de microrganismos não interferiu com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima à excepção do Trichomonas vaginalis (TV).
Foi observada interferência com TV quando presente em concentrações superiores a 3×10^4 células/ml.

Interferência

As substâncias descritas na Tabela 21 foram aditivadas individualmente em espécimes de citologia líquida ThinPrep agrupados diluídos 1:2,9 em STM às concentrações especificadas na tabela. Todas as substâncias foram testadas com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima na presença e ausência de células cultivadas infectadas com HPV (SiHa, 1,6 células/reacção e HeLa, 0,3 células/reacção). Foi observada interferência com o seguinte quando presente em concentrações superiores às especificadas: lubrificantes vaginais (que contenham Poliquatérnio 15) a 1% p/v, creme anti-fúngico (que contenha tioconazol) a 0,03% p/v, muco a 0,3% p/v, hormonas intravaginais (que contenham progesterona) a 1% p/v.

Tabela 21: Substâncias testadas relativamente a possível interferência com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Concentração mais elevada testada que não interferiu com o ensaio*
Lubrificante vaginal	KY natural feeling liquid	10% v/v
	up & up (Target brand) personal lubricant liquid	
	Astroglide**	1% p/v
Espermicida/ gel contraceptivo	Vaginal Contraceptive Foam (VCF)	10% p/v
	Options Conceptrol Vaginal Contraceptive Gel	
Creme antifúngico	up & up (Target brand) miconazole 3	10% p/v
	Monistat 3 Combination Pack	
	up & up (Target brand) Tioconazol 1	0,03% p/v
Duche	Summer's Eve Douche	10% v/v
	up & up (Target brand) feminine douche	
Spray feminino	Summer's Eve Feminine Deodorant Spray	10% p/v
	FDS Feminine Deodorant Spray	
Muco	Mucina porcina	0,3% p/v
Hormonas intravaginais	Creme vaginal Estrace (estrogénio)	10% p/v
	Creme Crinone (progesterona)	1% p/v
Sangue Total* **	Sangue Total	5% v/v
Leucócitos	leucócitos	$1x10^7$ células/ml
Solução de lavagem de ácido acético glacial^	Ácido acético glacial + solução CytoLyt	2,6% v/v

* concentração na amostra de teste; espécime de citologia líquida ThinPrep diluído 1:2,9 em STM (comparável ao espécime transferido para um tubo de transferência Aptima)

**Lubrificante pessoal que contenha Poliquatérnio 15.

***sangue total interferiu com o ensaio quando presente a 10% v/v da concentração do teste

^solução de lavagem de ácido acético glacial preparado misturando 1 parte de ácido acético glacial e 9 partes de solução Cytolyt, conforme indicado no *Manual do Operador do ThinPrep 2000 System* (ThinPrep 2000 System Operator's Manual).

Resultados previstos do Panther System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco

A prevalência de infecção por HPV de alto risco varia amplamente e é influenciada por diversos factores, sendo a idade o factor de maior preponderância.[19,20] Diversos estudos investigaram a prevalência do HPV conforme determinado pela detecção do DNA do HPV; no entanto, poucos estudos reportam prevalência com base na detecção do mRNA do HPV oncogénico. Foram inscritas num estudo clínico prospectivo conhecido por ensaio CLEAR mulheres provenientes de diversas clínicas (n=18) representando uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada (10 estados dos Estados Unidos da América) para avaliar o Aptima HPV assay, o qual detecta 14 tipos de HPV de alto risco.[21] Foram avaliadas amostras provenientes de mulheres no ensaio CLEAR com resultados positivos do Aptima HPV assay no Panther System com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima no Panther System num estudo clínico separado. A prevalência do HPV 16, 18/45, bem como dos restantes 11 tipos de HPV de alto risco observados no estudo clínico, com base nos resultados do teste com o Aptima HPV assay e o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System foi categorizada em geral, de acordo com o grupo etário e com o local de teste. Um resultado do Aptima HPV assay negativo no Panther System indica que nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco se encontram presentes e foram designados como negativos para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System para fins de análise. Os resultados são apresentados na Tabela 22 para as populações de células escamosas atípicas de significado indeterminado (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabela 22: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco em populações de acordo com o grupo etário, local de teste e todas em conjunto

	Taxa de Positividade % (x/n)							
	População ASC-US (≥ 21 anos)				População NILM (≥ 30 anos)			
	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	Outros 11 de HR* Pos	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	Outros 11 de HR* Pos
Tudo	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10,839)	0,5 (49/10,839)	< 0,1 (1/10,839)	3,6 (391/10,839)
Grupo etário (anos)								
21 a 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
30 a 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4,183)	0,7 (31/4,183)	0 (0/4,183)	5,1 (215/4,183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6,656)	0,3 (18/6,656)	< 0,1 (1/6,656)	2,6 (176/6,656)
Local de teste**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3,610)	0,4 (16/3,610)	< 0,1 (1/3,610)	3,6 (130/3,610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3,614)	0,4 (15/3,614)	0 (0/3,614)	3,6 (130/3,614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3,615)	0,5 (18/3,615)	0 (0/3,615)	3,6 (131/3,615)

N/A = Não aplicável, HR = alto risco, Pos = positivo
Nota: Mulheres com resultados negativos do Aptima HPV assay no Panther System foram designadas como negativas no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 no Panther System para fins de análise.
* Tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68
** Na população NILM, nem todos os indivíduos com resultados negativos do Aptima HPV assay no Panther System foram testados com o Ensaio dos genótipos 16 18/45 Aptima no Panther System. Para a análise de acordo com o local de teste, os resultados para estas mulheres foram atribuídos aleatoriamente a um dos 3 locais de teste.

Desempenho do ensaio no Panther System

Desenho do estudo clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

O Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliado no Panther System utilizando encaminhamentos de espécimes citológicos colhidos em mulheres que expressaram o seu consentimento durante o estudo clínico americano multicêntrico e prospectivo conhecido por ensaio CLEAR. O ensaio CLEAR foi realizado para determinar o desempenho clínico do Aptima HPV assay no Tigris DTS System para a detecção de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou doença cervical mais grave (≥CIN2). As mulheres foram inscritas tanto no Estudo ASC-US como no Estudo NILM com base nos respectivos resultados de encaminhamento baseados em citologia de base líquida ThinPrep provenientes de rastreios de rotina ao cancro do colo do útero. A população do Estudo ASC-US incluiu mulheres com 21 anos e idade superior com resultados citológicos de ASC-US e a população do Estudo NILM incluiu mulheres com 30 anos e idade superior com resultados citológicos de NILM.

Foram analisadas mulheres provenientes de 18 clínicas, sobretudo clínicas de obstetrícia/ginecologia, que abrangeram uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada. Durante o ensaio CLEAR, foram testados espécimes citológicos de encaminhamento residuais com o Aptima HPV assay no Tigris DTS System e com um teste de DNA do HPV aprovado pela FDA. Foram testados espécimes citológicos de encaminhamento residuais elegíveis do ensaio CLEAR com o Aptima HPV assay no Panther System. Para o ensaio clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, foram testadas amostras dos espécimes citológicos de encaminhamento residuais com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System.

Todas as mulheres no Estudo ASC-US foram encaminhadas para colposcopia, independentemente dos seus resultados do teste de HPV. Foi obtida uma curetagem endocervical (ECC), biopsia e biopsias cervicais por punção (1 biopsia de cada um dos 4 quadrantes). Caso fosse visível uma lesão, era obtida uma biopsia por punção (método direccionado; 1 biopsia por lesão) e quadrantes sem uma lesão visível foram submetidos a biopsia na junção escamo-colunar (método aleatório).

No Estudo NILM, as mulheres positivas com o Aptima HPV assay no Tigris DTS System e/ou com o teste do DNA do HPV aprovado pela FDA, bem como as mulheres seleccionadas aleatoriamente que tinham sido negativas com os dois ensaios, foram encaminhadas para colposcopia para a avaliação da linha de referência. Foi obtida uma biopsia ECC de cada uma das mulheres que realizaram colposcopia. As biopsias por punção foram obtidas apenas de lesões visíveis (método directo; 1 biopsia por lesão). O acompanhamento de mulheres no Estudo NILM que não têm ≥CIN2 prossegue há 3 anos com consultas citológicas anuais. As mulheres com ASC-US ou resultados citológicos mais graves durante o período de acompanhamento são encaminhadas para colposcopia, utilizando o mesmo procedimento de biopsia realizado para a avaliação da linha de referência.

O estado da doença foi determinado a partir de um consenso do painel de revisão de histologia, que foi baseado na concordância de, pelo menos, 2 patologistas especialistas. O estado de HPV e citologia das mulheres não foram apresentados aos patologistas especialistas, bem como os diagnósticos de histologia um do outro. Os resultados do teste do HPV não foram apresentados aos investigadores, médicos e mulheres até depois da conclusão da consulta de colposcopia, com o intuito de evitar desvio.

Para validar a utilização prevista do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System como um teste de reflexo de um espécime positivo do Aptima HPV assay, foram elegíveis para teste de espécimes citológicos de encaminhamento residuais de todas as mulheres susceptíveis de serem avaliadas no estudo ASC-US e no estudo NILM, com um resultado positivo do Aptima HPV assay com Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System. Foi avaliado o desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System para a detecção de ≥CIN2 e neoplasia intraepitelial de grau 3 ou doença do colo do útero mais grave (≥CIN3).

População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

Na totalidade, foram registadas 404 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 21 anos ou idade superior com resultados citológicos ASC-US e resultados positivos do Aptima HPV assay no Panther System, cujas amostras citológicas de encaminhamento foram elegíveis para teste com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System. Destas mulheres, 45 não dispunham de volume de amostra citológica de encaminhamento para teste neste estudo e 6 registavam diagnósticos de doença indeterminada; após uma análise dos valores em falta, estes não foram incluídos nos cálculos de desempenho. As 353 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com um estado de doença conclusivo registavam resultados válidos do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System com base no teste de reflexo para um resultado positivo do Ensaio do HPV Aptima no Panther System. Sessenta e sete (67) mulheres tinham ≥CIN2 e 30 tinham ≥CIN3.

Das 353 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com resultados positivos do Ensaio do HPV Aptima no Panther System, 118 mulheres registaram resultados positivos no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System indicando a presença do HPV 16 e/ou do HPV 18/45; 235 registaram resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco, conforme detectado pelo Aptima HPV assay (ou seja, HPV do tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Um número adicional de 539 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 21 anos ou idade superior com resultados citológicos ASC-US registaram resultados negativos com o Aptima HPV assay no Panther System. Um resultado negativo com o Aptima HPV assay indica que nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco se encontram presentes e foram designados como negativos para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System para fins de análise. A prevalência de ≥CIN2 e ≥CIN3 em mulheres susceptíveis de serem avaliadas com resultados citológicos de ASC-US foi de 9,1% e 3,8%, respectivamente. Com base em testes efectuados com o Panther System, os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima de acordo com o resultado do Aptima HPV assay e o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23: População ASC-US ≥ 21 anos: Resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay de acordo com o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT*	Interpretação	Consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positiva	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	2	132	70	23	10	0	237
		Total	6	182	104	37	29	1	359
Negativa	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	13	450	75	10	4	0	552
		Total	19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, CIN1 = neoplasia intraepitelial cervical de grau 1, HR = alto risco, Neg = Negativo, Pos = Positivo
*Todas as amostras apresentaram resultados finais (após o teste final ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).
**19 mulheres compareceram na consulta de colposcopia; no entanto não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: < 5 de espécimes de biopsia obtidos, todos com resultados de histologia normais/CIN1 (n=15), não foram colhidas biopsias (n=3) e lâminas da biopsia perdidas (n=1).
***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.
****Uma mulher apresentava adenocarcinoma in situ (AIS).

O risco absoluto de doença (≥CIN2 e ≥CIN3) segundo o resultado do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 e o resultado do Aptima HPV assay é apresentado na Tabela 24. O risco de ≥CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 28,8% comparativamente a 14,0% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e 2,6% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. O risco absoluto é apresentado por grupo etário na Tabela 25.

Tabela 24: População ASC-US ≥ 21 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
		Prevalência	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Tabela 25: População ASC-US ≥ 21 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay por grupo etário

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
21 a 29 anos	**Positiva**	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	**HPV de HR Neg**	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
			Prevalência	13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
30 a 39 anos	**Positiva**	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	**HPV de HR Neg**	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
			Prevalência	7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
≥ 40 anos	**Positiva**	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	**HPV de HR Neg**	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
			Prevalência	3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

O risco relativo de doença para resultados positivos vs. negativos do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima é apresentado na Tabela 26. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 11,1 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 22,8 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 2,1 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 4,0 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes.

Tabela 26: População ASC-US ≥ 21 anos: Risco relativo de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. outro HPV de HR positivo	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalência	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

As relações de probabilidade (≥CIN2 e ≥CIN3) de acordo com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima são apresentados na Tabela 27. Os tipos de HPV 16, 18 e/ou 45 tinham 4,1 vezes mais probabilidade de estarem presentes numa mulher com ≥CIN2 e 5,2 vezes mais probabilidade de estarem presentes numa mulher com ≥CIN3.

Tabela 27: População ASC-US ≥ 21 anos: Relações de probabilidade para ≥CIN2 e ≥CIN3 segundo os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Outro HPV de HR Positivo	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HPV de HR Negativo	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

População NILM ≥ 30 anos: Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

Na totalidade, verificaram-se 512 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 30 anos ou idade superior com resultados citológicos NILM e resultados positivos do Aptima HPV assay no Panther System, cujas amostras citológicos de encaminhamento foram elegíveis para teste com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima. Destas mulheres, 21 (11 realizaram colposcopia e 10 não realizaram colposcopia) não dispunham de volume de amostra citológica de encaminhamento para teste neste estudo; após uma análise dos valores em falta, estes não foram incluídos nos cálculos de desempenho. As 491 mulheres susceptíveis de serem avaliadas apresentaram resultados válidos no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima. Destas, 273 realizaram colposcopia. Catorze (14) mulheres tinham ≥CIN2 e 10 tinham ≥CIN3; 245 mulheres tinham histologia normal/CIN1; 14 mulheres apresentavam um estado de doença indeterminado.

Das 259 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com estado de doença conclusivo e resultados positivos do Aptima HPV assay no Panther System, 65 apresentaram resultados positivos no Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System, indicando a presença de HPV 16 e/ou HPV 18/45; 194 apresentaram resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco. Um número adicional de 549 mulheres susceptíveis de serem avaliadas com 30 anos ou idade superior com resultados citológicos NILM e estado de doença conclusivo apresentaram resultados negativos no Aptima HPV assay no Panther System. Um resultado negativo do Aptima HPV assay indica que nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco se encontram presentes e foram designados como negativos para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System para fins de análise. Os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima segundo o resultado do Aptima HPV assay e o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28: População NILM ≥ 30 anos: Resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay segundo o consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT*	Interpretação	Consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positiva	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	11	175	12	3	4	0	205
		Total	14	232	13	4	7	3	273
Negativa	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	31	527	16	5	1	0	580
		Total	45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).
**45 mulheres compareceram na consulta de colposcopia; no entanto não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: não pôde ser alcançado consenso devido a espécimes inadequados (n=29), não foram colhidas biopsias devido a factores subjacentes (n=13), não foram colhidas nem analisadas biopsias devido a erro (n=3).
***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.
****Três mulheres apresentavam adenocarcinoma in situ (AIS).

Das 491 mulheres com resultados positivos no Aptima HPV assay no Panther System e resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System, 232 mulheres apresentavam um estado de doença não verificado (incluindo indeterminado) (Tabela 29). Das 10 348 mulheres com resultados negativos no Aptima HPV assay provenientes do ensaio CLEAR original, 9799 apresentavam um estado de doença não verificado. Dado o estudo ter sido desenhado de modo a que apenas mulheres seleccionadas aleatoriamente com resultados negativos para o Aptima HPV assay no Tigris DTS System e para o teste de DNA aprovado pela FDA fossem encaminhadas para colposcopia, a proporção de mulheres com um estado de doença não verificado foi elevada neste grupo (96,2%). Para ajustar este desvio de verificação, foi utilizado um método de imputação múltipla para efectuar a estimativa do número de mulheres com doença que teriam sido identificadas caso todas as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia. São apresentadas tanto as estimativas de desempenho ajustadas do desvio de verificação como as estimativas de desempenho não ajustadas com base nas 808 mulheres com estado de doença verificado.

Tabela 29: População NILM ≥ 30 anos: Classificação de mulheres com NILM susceptíveis de serem avaliadas através do Aptima HPV Assay, Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e resultados do teste do DNA do HPV, estado da doença (≥CIN2 e ≥CIN3) e estado de verificação da doença

Resultado do Aptima HPV Assay*	Resultado do Ensaio AHPV-GT*	Teste do DNA do HPV	Total de mulheres	Estado de doença verificada: ≥CIN2		Estado de doença verificada: ≥CIN3		Estado de doença não verificada
				Mulheres doentes (≥CIN2)	Mulheres não doentes (<CIN2)	Mulheres doentes (≥CIN3)	Mulheres não doentes (<CIN3)	Mulheres com estado de doença desconhecido (% desconhecida)
Positiva	Positiva	Positiva	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positiva	Negativa	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positiva	Sem resultado**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativa	Positiva	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativa	Negativa	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativa	Sem resultado**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
		Total	491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativa	N/A***	Positiva	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/A***	Negativa	9467	2	362	0	364	9103 (96,2%)
	N/A***	Sem resultado**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
		Total	10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5%)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, N/A = não aplicável
*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).
**616 mulheres com resultados do Aptima HPV assay não apresentaram resultados do teste do DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.
***Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Os riscos absolutos de doença ajustados (≥CIN2 e ≥CIN3) segundo o resultado do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 e o resultado do Aptima HPV assay são apresentados na Tabela 30a. O risco de ≥CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 10,8% comparativamente a 3,8% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e 1,0% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Os riscos absolutos da doença não ajustados são apresentados em geral na Tabela 30b e de acordo com o grupo etário na Tabela 31.

Tabela 30a: População NILM ≥ 30 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
		Prevalência	1,1%	0,8%

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Tabela 30b: População NILM ≥ 30 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
			Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativa	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
		Prevalência	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Tabela 31: População NILM ≥ 30 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay por grupo etário (estimativas não ajustadas)

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do Ensaio AHPV-GT	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)
30 a 39 anos	**Positiva**	**HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativa	**HPV 16/18/45 Neg***	**HPV de HR Neg**	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
			Prevalência	2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 anos	**Positiva**	**HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos**	**HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos**	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	**Apenas HPV 16 Pos**	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	**Apenas HPV 18/45 Pos**	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	**HPV 16 e 18/45 Pos**	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 Neg	**Outros HPV de HR Pos**	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos ou Neg	**HPV de HR Pos**	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativa	**HPV 16/18/45 Neg***	**HPV de HR Neg**	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
			Prevalência	2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = não aplicável
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

O risco relativo de doença para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com resultados positivos vs. negativos são apresentados na Tabela 32 (desvio de verificação ajustado) e na Tabela 33 (não ajustado). Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 12,7 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 18,4 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Mulheres que apresentaram HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 tinham 2,9 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN2 e 3,8 vezes mais probabilidade de ter ≥CIN3 do que mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes.

Tabela 32: População NILM ≥ 30 anos: Risco relativo de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. outro HPV de HR pos	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Outro HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalência	1,1%	0,8%

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Tabela 33: População NILM ≥ 30 anos: Risco relativo de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Risco relativo (CI de 95%)	**Risco relativo (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. outro HPV de HR pos	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Outro HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalência	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

As relações de probabilidade (≥CIN2 e ≥CIN3) segundo o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima são apresentadas na Tabela 34 (desvio de verificação ajustado) e na Tabela 35 (não ajustado). Os tipos de HPV 16, 18 e/ou 45 tinham 17,1 vezes mais probabilidade de estarem presentes numa mulher com ≥CIN2 e 21,9 vezes mais probabilidade de estarem presentes numa mulher com ≥CIN3.

Tabela 34: População NILM ≥ 30 anos: Relações de probabilidade para ≥CIN2 e ≥CIN3 segundo os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas do desvio de verificação)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Outro HPV de HR Positivo	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HPV de HR Negativo	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Tabela 35: População NILM ≥ 30 anos: Relações de probabilidade para ≥CIN2 e ≥CIN3 segundo os resultados do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas)

Interpretação dos resultados do Ensaio Aptima*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Relação de probabilidade (CI de 95%)	**Relação de probabilidade (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Outro HPV de HR Positivo	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HPV de HR Negativo	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = intervalo de confiança, HR = alto risco
*Mulheres com resultados negativos com o Aptima HPV assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para fins de análise.

Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com espécimes de citologia líquida SurePath

Foram colhidos espécimes de citologia líquida SurePath de mulheres canadianas encaminhadas para seguimento devido a um ou mais exames Papanicolau anómalos, infecção por HPV ou outra razão. Uma alíquota (0,5 ml) de cada espécime foi transferida para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima e depois tratada com a Solução de Transferência Aptima. Uma única réplica de cada espécime foi testada com o Aptima HPV Assay (n=481). As amostras positivas foram então testadas com o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e o Aptima HPV Assay, sendo os resultados apresentados na Tabela 36. São apresentados resultados semelhantes para o teste de PCR para o HPV disponível no mercado, que diferencia o HPV 16 e HPV 18, mas não o HPV 45, distintamente em relação aos outros genótipos de alto risco. O risco relativo de doença para resultados positivos versus negativos de genótipos é apresentado na Tabela 37 para o Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e o teste de PCR para o HPV.

Tabela 36: Risco absoluto de ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e um teste de PCR para o HPV disponível no mercado

Resultado para HPV de HR	Resultado para o genótipo	Interpretação	Risco absoluto de ≥CIN3, Aptima (CI de 95%)	Risco absoluto de ≥CIN3, PCR para o HPV (CI de 95%)
Positiva	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45* Pos	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 Pos e HPV 18/45* Neg	Apenas HPV 16 Pos	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Pos	Apenas HPV 18/45* Pos	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e HPV 18/45* Pos	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	Outros HPV de HR Pos	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negativa**	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	HPV de HR Neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
		Prevalência (%)	4,0%	5,0%

HR = alto risco; Pos = Positivo; Neg = Negativo

*O teste de PCR para o HPV só diferencia o HPV 16 e HPV 18 dos outros 12 genótipos de alto risco, incluindo HPV 45.

**Mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram designadas como negativas para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima, para fins de análise.

Tabela 37: Risco relativo de ≥CIN3 para resultados do Ensaio dos genótipos do HPV 16 18/45 Aptima e um teste de PCR para o HPV disponível no mercado

Resultados do Aptima Assay		Resultados do teste de PCR para o HPV	
Interpretação do teste	**Risco relativo para ≥CIN3 (CI de 95%)**	**Interpretação do teste**	**Risco relativo para ≥CIN3 (CI de 95%)**
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. outro HPV de HR positivo	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. outro HPV de HR positivo	3,9 (1,6-9,5)
Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	6,6 (1,6-27,1)	Outro HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	3,2 (0,8-12,8)
HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	10,7 (3,3-35,1)	HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	7,4 (2,3-24,3)
Prevalência	4,0%	Prevalência	5,0%

Desempenho clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima com colheita e transporte de espécimes cervicais

O desempenho do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliado utilizando amostras CSCT colhidas em mulheres encaminhadas para uma consulta de acompanhamento devido a um resultado de Papanicolau anormal. Os espécimes foram inicialmente testados com o Aptima HPV assay (n=651). Espécimes com um resultado positivo com o Aptima HPV assay (n=414) foram posteriormente testados com o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima tanto no Tigris DTS System como no Panther System.

A concordância clínica do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima para a detecção de HPV 16, 18 e 45 de alto risco para o Panther System foi determinada com base no resultado do Tigris DTS System como método de referência. Foram calculadas percentagens de concordância positivas e negativas e foram associadas pontuações de intervalos de confiança de 95%. Os resultado são apresentados na Tabela 38.

Tabela 38: Concordância clínica do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Panther System para a detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco em espécimes CSCT

		Resultado do Tigris DTS System				
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Total
Resultado do Panther System	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	194	0	1	3	198
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	34	0	0	34
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	0	0	7	0	7
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	173	175
	Total	195	35	8	176	414

Pos = Positivo, Neg = Negativo

Concordância positiva: 98,7% (235/238) (CI de 95%: 96,4, 99,6)

Concordância negativa: 98,3% (173/176) (CI de 95%: 95,1, 99,4)

Sensibilidade analítica

O limite de detecção (Limit of Detection, LOD) no “cutoff” clínico consiste numa concentração que é positiva (acima do “cutoff” clínico) 95% das vezes. O LOD do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi estimado testando espécimes citológicos de base líquida ThinPrep clínicos negativos individuais ou agrupados aditivados com transcritos de HPV *in vitro* ou células cultivadas infectadas com HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) em diversas concentrações. Para os painéis de transcrito *in vitro*, foram testadas 60 réplicas de cada nível de cópias com cada um dos dois lotes de reagentes para um número total de 120 réplicas. Foram testadas 30 réplicas de cada nível de cópias para painéis de linhas de células com cada um dos dois lotes de reagentes para um número total de 60 réplicas. Os testes foram efectuados durante oito dias com um mínimo de três execuções realizadas em cada dia e cinco réplicas para um determinado genótipo testado em cada execução. O limite de detecção de 95% (Tabela 39) foi calculado a partir da análise de regressão Probit dos resultados de positividade para cada painel de diluição.

Tabela 39: Limite de Detecção no "cutoff" clínico do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima

Alvo	Limite de detecção* (CI de 95%)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

*cópias por reacção para transcritos *in vitro* e células por reacção para linhas celulares

Precisão do Ensaio

A precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foi avaliada em dois estudos utilizando o mesmo painel de 24 membros. O Estudo 1 foi realizado em 3 locais de teste externos a fim de determinar a reprodutibilidade do ensaio. O Estudo 2 foi realizado internamente com o objectivo de determinar a precisão em laboratório. O painel incluiu dezassete membros do HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações iguais ou superiores ao limite de detecção do ensaio (positividade prevista: ≥ 95%), 3 membros do HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações abaixo do limite de detecção do ensaio (positividade prevista: > 0% a < 25%) e 4 membros do HPV negativos. Os membros positivos do painel do HPV 16 e/ou 18/45 foram preparados aditivando transcrito *in vitro* ou células cultivadas infectadas com HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados ou diluindo espécimes clínicos do HPV 16, 18 e/ou 45 em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados. Os membros negativos do painel do HPV foram preparados com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados ou com solução PreservCyt.

No Estudo 1, 2 operadores em cada um dos 3 locais de teste (1 instrumento por local) executaram 2 listas de trabalho do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima por dia durante 3 dias. O teste foi executado utilizando 2 lotes de reagentes. Cada lista de trabalho continha 3 réplicas de cada um dos membros do painel de reprodutibilidade. Foram testados cento e oito (108) tubos de amostra individuais para cada membro do painel (3 locais x 1 instrumento x 2 operadores x 2 lotes x 3 dias x 3 réplicas). No Estudo 2, o teste foi efectuado internamente durante 13 dias com um total de 162 reacções testadas para cada membro do painel (1 local x 3 instrumentos x 3 operadores x 3 lotes x 2 listas de trabalho x 3 réplicas).

Os membros do painel encontram-se descritos na Tabela 40a e na Tabela 40b, juntamente com um resumo da concordância com resultados previstos para o HPV 16 e HPV 18/45 respectivamente.

Tabela 40a: Precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Estudo 1 e 2: Descrição do painel e concordância percentual com os resultados previstos do HPV 16

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	Resultados previstos do HPV 16	Concordância percentual (CI de 95%)	
		Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
IVT de HPV 16 (240 cópias)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 18 (260 cópias)	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 45 (350 cópias)	Negativa	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Amostra clínica do HPV 16 1	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) e células HeLa (0,7 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) e células HeLa (7 células)	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células SiHa (0,4 células)	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células HeLa (0,7 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
IVT de HPV 16 (24 cópias)	Positiva	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
IVT de HPV 18 (26 cópias)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 45 (35 cópias)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 2	Positiva	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Amostra clínica do HPV 16 3	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Amostra clínica do HPV 18/45 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,001 células)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Células HeLa (0,001 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,006 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 1 do HPV	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 2 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV negativo em PreservCyt 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV negativo em PreservCyt 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Intervalo de Confiança da Pontuação

Nota: *A concordância percentual pode ter sido afectada por variações na aditivação, diluição e/ou aliquotagem.*

Tabela 40b: Precisão do Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima no Estudo 1 e 2: Descrição do painel e concordância percentual com os resultados previstos do HPV 18/45

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	Concordância percentual (CI de 95%)		
	Resultado previsto do HPV 18/45	Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
IVT de HPV 16 (240 cópias)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 18 (260 cópias)	Positiva	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 45 (350 cópias)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 1	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) e células HeLa (0,7 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) e células HeLa (7 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células HeLa (0,7 células)	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células)	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
IVT de HPV 16 (24 cópias)	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 18 (26 cópias)	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT de HPV 45 (35 cópias)	Positiva	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Amostra clínica do HPV 16 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 16 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica do HPV 18/45 2	Positiva	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Amostra clínica do HPV 18/45 3	Positiva	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (0,001 células)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células HeLa (0,001 células)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Células MS751 (0,006 células)	Negativa	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Amostra clínica negativa 1 do HPV	Negativa	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica negativa 2 do HPV	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV negativo em PreservCyt 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV negativo em PreservCyt 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Intervalo de Confiança da Pontuação
Nota: *A concordância percentual pode ter sido afectada por variações na aditivação, diluição e/ou aliquotagem.*

Reactividade cruzada

Os testes de organismos potencialmente com reactividade cruzada para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima foram realizados utilizando o Tigris DTS System. Consulte os resultados em *Reactividade cruzada* (Tabela 20) na secção Tigris DTS System.

Interferência

Foi realizado o teste com potenciais substâncias de interferência para o Ensaio dos genótipos HPV 16 18/45 Aptima utilizando o Tigris DTS System. Consulte *Interferência* (Tabela 21) na secção Tigris DTS System para obter resultados.

Bibliografia

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.**1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. Int J Cancer. 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? Int J Cancer. 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clin Sci (Lond). 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. Clin Microbiol Rev. 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. BMJ. 325(7364): 572-579.
8. **Monsonego J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. Int J Cancer. 108(3):329-33. Erratum in: Int J Cancer. 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. J. Med. Virol. 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. The Lancet. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. J. Nat. Cancer institute. 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. Cancer Res. 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. J. Natl. Cancer Inst. 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. Journal of Lower Genital Tract Disease. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. Clin Chem. 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. Biochem. 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. Annals Int Med. **148**:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. The Lancet. **366**, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. American Journal of Obstetrics & Gynecology. **208(2)**:144-145.

IVD

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA

Apoio ao Cliente: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Suporte técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

EC REP

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
Holanda

Para obter mais informações sobre contactos, aceda a www.hologic.com.

Este produto destina-se a ser utilizado apenas no domínio do diagnóstico *in vitro* de seres humanos.

Hologic, Aptima, DTS, Panther, PreservCyt, ThinPrep e Tigris são marcas comerciais e/ou marcas registadas da Hologic, Inc. e/ou respectivas subsidiárias nos EUA e/ou em outros países

RAININ é uma marca comercial da Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH e PREPSTAIN são marcas comerciais da TriPath Imaging, Inc.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respectivos proprietários.

© 2007-2015 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.
AW-11504-601 Rev. 002 (PT)

2015-03